

Aus der Städt. Frauenklinik Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Dr. med. E. Jung
Arbeitsgruppe Perinatale Medizin der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. med. E. Saling

Bestimmung der Lungenreife des Feten durch Fruchtwasseruntersuchungen

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Dr.-Ing. Geno Kynast
aus Berlin

1976

Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Städt. Frauenklinik Berlin-Neukölln
Ärztlicher Direktor: Dr. med. E. Jung
Arbeitsgruppe Perinatale Medizin der Freien Universität Berlin
Leiter: Prof. Dr. med. E. Saling

Bestimmung der Lungenreife des Feten durch Fruchtwasseruntersuchungen

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Dr.-Ing. Geno Kynast
aus Berlin

Referent: Professor Dr. med. E. Saling

Korreferent: Professor Dr. med. H. Hoffbauer

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 15. 6. 1976



Meinen Eltern gewidmet

Verzeichnis der Abkürzungen

DC-	: Dünnschicht-
FW	: Fruchtwasser
h	: Stunden
LC	: Lezithin-Standards
Lec	: Lezithin
LSP	: Lezithin-/Sphingomyelin-Mischstandards
L/S-Quotient	: $\frac{\text{mg Lezithin}}{\text{mg Sphingomyelin}}$
L/S-ratio	: Verhältnis Lezithin zu Sphingomyelin, Dimensionen unterschiedlich, z.B. Fläche/Fläche
min	: Minuten
n	: Anzahl der Messungen
p.a.	: analysenrein (pro analysi)
RDS	: respiratory distress syndrom
R _f	: definiert als: $\frac{\text{Substanzstrecke (mm)}}{\text{Laufmittelstrecke (mm)}}$
R _p	: Remissionswert des Meßflecks
R _u	: Remissionswert des Untergrunds
Sp	: Sphingomyelin
U/min	: Umdrehungen pro Minute
v/v/v	: Mischungsverhältnis von Flüssigkeiten bezogen auf Volumen

Inhaltsübersicht

Seite

1 Literaturübersicht und Problemstellung	3
2 Material und Methode	14
21 Prinzip	14
22 Reagenzien und Probenvorbereitung	14
23 Extraktion der Proben	15
24 Vorbereitung der Dünnschichtplatten	16
25 Auftragung	17
26 Entwicklung und Anfärbung der Dünnschichtplatten	18
27 Densitometrische Messung	18
28 Auswertung und Berechnung	20
281 Bedienung des Rechners	28
282 Gehaltsberechnung mit Rechenbeispielen	29
29 Variation der Methode zur Bestimmung des L/S-Quotienten	30
3 Ergebnisse und Diskussion	32
31 Meßgenauigkeit	32
32 Kosten und Zeitaufwand	34
33 Untersuchungsverfahren und Ergebnisse	35
34 Beurteilung der Methode	39
4 Zusammenfassung	42
5 Literaturverzeichnis	44

1 Literaturübersicht und Problemstellung

Das Atemnotsyndrom (Synonyme: respiratory distress syndrome = RDS, Hyalinmembransyndrom) ist die wichtigste postnatale Komplikation des Frühgeborenen. Rund 8% einer lückenlosen Frühgeborenenpopulation und über 20% der eine negative Auslese darstellenden Fälle in Frühgeborenenabteilungen werden davon befallen. Die Letalität liegt immer noch bei 30 bis 55% (K_4). Allein in den USA wird die Zahl der Fälle von RDS auf 1000 pro Woche geschätzt (G_7). Es liegt damit auf der Hand, daß die Vermeidung, Früherkennung und Therapie dieses Krankheitsbildes eine der wichtigsten Aufgaben der perinatalen Medizin ist (S_1). Die Vielzahl der in den letzten sechs Jahren auf diesem Gebiet veröffentlichten Arbeiten stellt dieses Interesse klar unter Beweis.

Das Atemnotsyndrom kann neben neurologischen Ausfällen und einem Intelligenzdefizit auch bleibende Lungenschäden wie peribronchiale Verdickungen und Überdehnung der Lunge verursachen (O_2). Die Ätiologie der Erkrankung ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Sicher ist, daß ein entscheidender, nach Meinung vieler Autoren der entscheidende Faktor das Fehlen der Phospholipide (Synonyme: Surfactant, Anti-atelektase-Faktor) ist. Die pathogenetische Kausalkette lautet in diesem Falle: niedrige Oberflächenspannung in den Lungenalveolen -- Atelektasen und Ventilationsstörungen -- Hypoperfusion und Rechts-Links-Shunt. Andere Autoren bezeichnen die Perfusionsstörung als primären Faktor (K_4). Zu dieser kann es durch eine aus Hypoxie und Azidose resultierende Asphyxie kommen.

Bei unreifen Feten mit geringer Alveolenzahl, geringer alveolärer Oberflächenaktivität und einem mangelhaften perialveolären Kapillarnetz -- und damit geringen Kompensationsmöglichkeiten -- kann es so schnell zu asphyktischen Schäden kommen, die einen circulus vitiosus auslösen. Dieser ist nur anfänglich und begrenzt unter Pufferinfusion oder Sauerstofftherapie reversibel, denn durch Vasodilatation,

Prästase, Stase und Schocksymptomatik mit intravasalen Gerinnungsvorgängen werden bald bleibende Schäden gesetzt. In schweren Fällen werden die Kinder bereits in einem infausten Zustand geboren.

Nach PENDER (P_3) soll die Aspiration mütterlichen Blutes eine wesentliche Rolle bei der Entwicklung des RDS spielen. FINE (F_3) nimmt an, daß aus dem Blut stammende Endotoxine die Ursache sind.

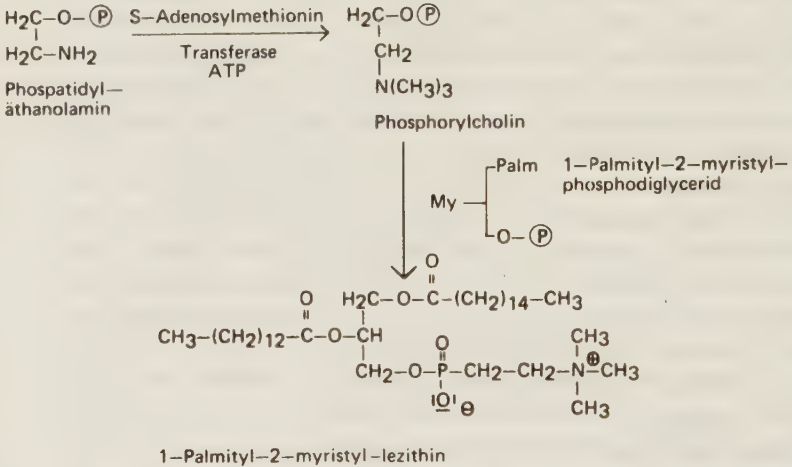
Körperliches Wachstum und Reifung der Lunge müssen nicht parallel laufen. Prä- oder dysmature Kinder sind zwar in höherem Maße RDS-gefährdet (K_9) aber auch mature, normalgewichtige und -proportionierte Kinder können erkranken. Deshalb ist es abwecheln, das Gestationsalter als Maß für die Lungenreife anzusehen. Nicht allein das Gestationsalter, Größe oder Gewicht, sondern vordringlich die funktionelle Reife des Feten sind zu bestimmen. Diese Tatsache macht klar, warum eine große Zahl von Parametern, die als Indikator für eine RDS-Gefährdung herangezogen wurden, die in sie gesteckten Erwartungen nicht erfüllt hat (B_7). Auch durch mannigfache, den Arbeitsaufwand stark erhöhende Kombinationen von Methoden (D_5, M_{10}, O_1), lassen sich keine entscheidenden Verbesserungen erreichen. Das gilt sowohl für allgemeine Methoden wie Messung von Herzschlag, Größe, Gewicht und intrauterinem Wachstum, Plazentafunktion und Röntgenkontrolle als auch für zytologische Untersuchungen, speziell der Bestimmung der Orangezellen (F_1, G_{10}, M_{10}, O_1) oder die Messung der Osmolarität des Fruchtwassers (M_5). Auch die biochemische Untersuchung einer ganzen Reihe von Fruchtwasserinhaltsstoffen (ausführliche Literatur bei M_2) wie Kreatinin (G_1, O_1, P_4, W_5), Bilirubin (M_1), Glucose, Harnstoff, Oestrogene (W_5), β -Hydroxybutyrat (S_9) oder Amylase (D_1) erlaubt keine sicheren Rückschlüsse auf die Lungenreife. Einzig die Phospholipide und hier speziell die Lecithine lassen eindeutige Schlüsse zu, denn hier besteht eine enge Korrelation zum Atemnotsyndrom (N_5). Es gibt zur Zeit kein Verfahren mit gleichwertiger Aussagekraft.

Es konnte nachgewiesen werden, daß der Lezithingehalt des Trachealsekrets in enger Korrelation zu dem des Fruchtwassers steht (B_6 , C_6). Daraus ergibt sich die Berechtigung, vom Lezithingehalt des Fruchtwassers auf die Lungenreife zu schließen. Die Lezithine und hier wieder das Dipalmitylezithin stellen die Hauptkomponente der Phospholipide dar. Ihr Anteil an der Gesamtoberflächenaktivität der Alveolen beträgt 50 bis 70% (G_7). Ihre Biosynthese im Organismus ist eingehend untersucht worden (B_9 , G_5 , G_6 , G_7 , M_6 , Z_2 , Z_3). Hauptsyntheseort ist die Lunge und dort wahrscheinlich die osmophilen Granula der Pneumocyten II (K_4). Andere Produktionsstätten wie die Placenta oder die Eihäute können nicht so hohe Fruchtwasser-Lezithinspiegel erzeugen, was sich bei Lungenhypoplasie nachweisen läßt (K_9). Die Biosynthese der Lezithine verläuft fast ausschließlich nach zwei enzymatischen Prozessen, deren Bedeutung sich im Verlaufe der Schwangerschaft charakteristisch verschleibt (G_3 , G_6):

Früher Syntheseweg: Beim unreifen Feten (22. bis 35. Woche) überwiegt die Bildung von 1-Palmityl-2-myristylezithin. Dazu werden unter der Wirkung der Phosphatidylmethyl-Transferase in Gegenwart von ATP Methylgruppen von S-Adenosylmethionin auf Phosphatidyläthanolamin übertragen (Abb. 1) und das erhaltene Produkt an das 1-Palmityl-2-myristylphosphoglycerid gekoppelt. Diese Synthese wird durch Acidose, Hypoxie und Hyperkapnie viel stärker gehemmt als die nachfolgend beschriebene Dipalmitylezithin-Synthese.

Später Syntheseweg: Etwa von der 35. Woche an wird die Bildung von Dipalmitylezithin aus 1,2-Dipalmitylphosphodiglycerid und Phosphorylcholin unter der Wirkung von Phosphorylcholin(cytidyl)glycerid-Transferase stark aktiviert (Abb. 1). Dieser Vorgang ist am steilen Anstieg der Lezithine im Fruchtwasser zu diesem Zeitpunkt erkennbar (K_8). Parallel läuft die Konzentrationszunahme der zugehörigen Fettsäuren. Myristin (14 C-Atome)- und Stearinsäure (18 C-Atome) steigen im Verlauf der Schwangerschaft um den Faktor 4, Palmitinsäure (16 C-Atome) um den Faktor 20 an (L_5).

I Früher Syntheseweg:



II Später Syntheseweg:

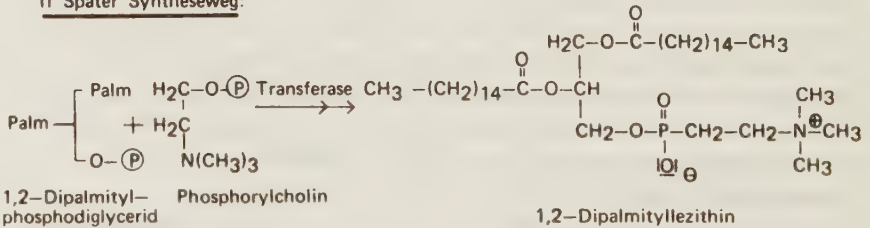


Abb. 1: Wege der Biosynthese der wichtigsten Lezithine (Palm = Palmitinsäure; My = Myristinsäure)

Die klinische Erfahrung zeigt, daß in Stresssituationen, wie Blasensprung (R_2), Wehenbeginn oder Geburt oder auch durch therapeutische Maßnahmen wie der Gabe von Corticoiden an die Mutter, der Lezithinspiegel des Fruchtwassers sehr schnell ansteigt. Eine Verdoppelung der Konzentration in wenigen Stunden ist mehrfach beobachtet worden. Dabei ist allerdings noch unklar, inwieweit der Anstieg durch Neubildung oder nur durch Ausschüttung von gespeicherten Lezithinen erreicht wird.

Aus den genannten Gründen wird die Lungenreife heute allgemein über den Lezithingehalt des Fruchtwassers bestimmt, wobei die Verfahrenswege jedoch sehr unterschiedlich sind.

Zu den unspezifischen Verfahren gehört die Bestimmung der Oberflächenspannung (M_5). Sie hat den Vorteil geringen apparativen und zeitlichen Aufwands, eignet sich wegen der geringen Spezifität aber meist nur als screening-Verfahren, d.h. zur Vorkontrolle und Erkennung sicher nicht RDS-gefährdeter Feten (K_9 , R_4).

Das stärkste Interesse bei den unspezifischen physikalischen Methoden findet zur Zeit der Schaumtest nach CLEMENTS et al. (C_5), da es sich hier um eine mit einfachen Hilfsmitteln schnell durchführbare bedside-Methode handelt. Die Ergebnisse wurden von verschiedenen Autoren mit denen der L/S-ratio (B_8 , C_1 , D_3 , G_9 , K_3 , M_4 , M_9 , N_2 , P_1 , P_2 , S_{11}) und denen der Lezithinbestimmung (B_4 , D_3 , K_E) verglichen. Dabei zeigte es sich, daß der Schaumtest nur mit Blut- und Mekoniumfreien Fruchtwasserproben durchführbar ist, da sonst falsch positive Ergebnisse erhalten werden können (K_9 , T_1). Bei weniger als 35 Wochen alter Gestation werden stets negative Ergebnisse erhalten (M_4). Die Zahl der falsch negativen Ergebnisse im Vergleich mit den Bezugsmethoden liegt in der Größenordnung von 1/3 (G_9 , K_9). Eine Verlängerung der Schüttelzeit auf 20 min soll diese Rate senken (G_9). Fällt der Test positiv aus, so ist die Lungenreife mit hoher Wahrscheinlichkeit gegeben. Daraus folgt, daß dieses Verfahren allein nur begrenzt aussagekräftig, als screening-Test jedoch geeignet ist (B_4 , D_3 , G_9). Als solcher hat er bereits Eingang in die Routinediagnostik gefunden (K_9). Falsch positive Ergebnisse, die von SHEPARD et al. (S_5) in der unwahrscheinlichen Höhe von 18% (!) angegeben werden, können unserer Ansicht nach nur auf methodischen Fehlern beruhen.

Für die direkte Messung der Oberflächenspannung in dyn/cm, wie sie von RÜTTGERS (R_6) vorgeschlagen wurde und auch von

uns zur Zeit untersucht wird, ist noch kein Gerät auf dem Markt. Die Verwendung der Wilhelmy-Waage (M_8) ist wegen des hohen Preises und versuchstechnischer Schwierigkeiten in der Routine noch nicht möglich, die Meßgenauigkeit muß noch überprüft werden.

Eine sehr einfache visuelle Methode ist die von HASTWELL (H_1) vorgeschlagene Beurteilung der Lungenreife anhand des Gehaltes an Vernix, wobei ein hoher Gehalt an Vernix ausreichende Lungenreife, klares Fruchtwasser Unreife bedeutet. Der Autor gibt eine gute Übereinstimmung mit parallel gemessenen L/S-ratio-Werten an. Hier ist es sicher schwierig, objektive Beurteilungsmaßstäbe zu schaffen. Immerhin ließen sich nach Angaben des Autors nur 50 von 90 Fruchtwässern eindeutig zuordnen.

ZABKAR (Z_1) zeigt den Zusammenhang zwischen Vernixgehalt und Gestationsalter und schlägt die Objektivierung der Reifebestimmung durch visuelle amnioskopische Beurteilung der Vernixmenge und der FW-Trübung vor.

•

GUSDON und WAITE (G_{11}) beschreiben eine Methode, bei der der Gesamtphosphorgehalt des Fruchtwassers colorimetrisch ermittelt und daraus der den Lezithinen zuzuordnende Anteil mit 70% berechnet wird. Dieses Verfahren ist wegen seiner Unspezifität und vor allem wegen der Ungewißheit über den den Lezithinen zuzuordnenden Phosphoranteile abzulehnen. Abgesehen von biologischen und eventuell pathologischen Schwankungen ist nämlich bekannt, daß der Lezithinanteil an den Phospholipiden im Laufe der Schwangerschaft von etwa 20% auf etwa 65% steigt (B_5 , L_4 , S_4), die Berechnung somit eine genaue Kenntnis des Gestationsalters voraussetzen würde. Bestimmungen der Lungenreife aus dem Gesamtphosphorgehalt des Fruchtwassers (N_4) erscheint somit fragwürdig.

Eher gangbar erscheint der Weg, den Palmitinsäuregehalt des Fruchtwassers zu messen, da etwa 90% desselben aus abgebauten Lezithinen stammt (L_5). Für die Bestimmung dieser und

anderer Fettsäuren bietet sich die Gaschromatographie an (B_1 , H_2 , L_5 , Z_4), eine sehr genaue, aber erheblichen Aufwand für Reinigung und Durchführung erfordernde Methode. SINGH und ZUSPAN (S_7) haben mit dieser Methode die organischen Inhaltsstoffe des Fruchtwassers bestimmt und besonders auf die noch ungeklärte Rolle der gesättigten Kohlenwasserstoffe (18 bis 36 C-Atome) und gesättigten und ungesättigten Alkohole (12 bis 20 C-Atome) hingewiesen, deren Anteile 14,3% bzw. 11,3% der Fruchtwasserlipide und deren Abbaustoffe ausmachen. ALCINDOR et al. (A_1 , S_2) wenden die Flüssigkeits-Gaschromatographie, eine Variante der klassischen Gaschromatographie zur Bestimmung des Palmitin-Stearinsäure-Quotienten an und meinen, daß dieser ein besseres Maß für die Lungenreife ist, als die vergleichend gemessene L/S-ratio.

Die gängigsten Verfahren sind heute die von GLUCK et al. (G_4) vorgeschlagene Bestimmung der L/S-ratio (Verhältnis der gravimetrisch gemessenen Werte, Verhältnis der Fleckengröße oder der densitometrisch gemessenen Remissionswerte von Lezithin: Sphingomyelin nach dünnschichtchromatographischer Trennung) und die direkte Lezithinbestimmung (B_2 , B_3 , K_8 , N_3). Die Frage, welche Methode sich endgültig durchsetzen wird, läßt sich heute noch nicht beantworten (C_3 , G_8 , N_4 , P_3). Allgemein anerkannt wird die gute Praktikierbarkeit der L/S-ratio-Bestimmung, da hierfür bereits ein Analysen-Set im Handel ist (Chromat/O/Screen). Von einigen Autoren wird jedoch mangelnde Korrelation zwischen niedrigen ratio-Werten und dem Auftreten des RDS festgestellt (B_5 , M_4 , N_1 , N_2 , S_3 , W_4), vereinzelt werden auch falsch positive Ergebnisse genannt (B_8 , D_4 , G_9 , N_1). Die Häufigkeit des Auftretens eines RDS bei einer L/S-ratio $< 2,0$ wird sehr unterschiedlich beurteilt. Fünf verschiedene Autoren geben Häufigkeiten von 25 bis 90% (!) an. Nach LORENZ (R_6) ist die Sicherheit, daß bei einer L/S-ratio von ≥ 3 kein Atemnotsyndrom auftritt, nur 95,3% ! Die Veränderung der Ergebnisse durch die nach der GLUCK-Vorschrift durchzuführende Azeton-Fällung, die Art der Auswertung u.a. Grös-

sen wurde von WAGSTAFF (W_1) nachgewiesen. Der Sinn der Azeton-Fällung wird verschiedentlich in Frage gestellt. (R_5 , S_8). Sie stellt einen erheblichen Arbeitsaufwand und eine Fehlerquelle dar und bietet keine wesentlichen Vorteile.

Ein weiterer Nachteil der ratio ist die Abhängigkeit von Sphingomyelin als innerem Standard. Die Ergebnisse sind nur dann exakt, wenn der Sphingomyelingehalt konstant bleibt. Weiterhin erhält man als Ergebnis keine Konzentrationsangaben, z.B. in mg Lezithin/100 ml Fruchtwasser, sondern nur dimensionslose Verhältniszahlen. Daraus folgt, daß für Untersuchungen, bei denen die Lezithinkonzentration des Fruchtwassers oder anderer Sekrete wie des Trachealsekrets ermittelt werden soll, dieses Verfahren nicht anwendbar ist. Dieser Punkt muß besonders beachtet werden wenn therapeutische Maßnahmen ergriffen wurden, die ja auch die Sphingomyelinkonzentration beeinflussen können. Ob die bei bestimmten Krankheitsbildern wie Diabetes mellitus, Rhesus-Isoimmunisierung und Praeklampsie auftretenden Interpretationsschwierigkeiten (M_4 , W_2 , W_3) durch Änderung der Meßmethode zu umgehen sind, ist noch nicht geklärt. Die L/S-ratio als Verfahren zur Ermittlung des Gestationsalters hat, sowohl Fürsprecher (Q_1) als auch Gegner (N_1). Skepsis ist hier sicher angebracht, da, wie bereits erwähnt, die funktionelle Reifung für die die L/S-ratio ein Maß ist, nicht in jedem Falle dem Gestationsalter folgt. Die Zahl der Veröffentlichungen zur L/S-ratio ist so umfangreich, daß hier nur einige wichtige Arbeiten aus den letzten vier Jahren genannt werden sollen (C_3 , C_6 , D_4 , D_7 , F_4 , H_3 , J_1 , M_3 , N_1 , S_{10} , W_2 , Y_1).

Die neueren Veröffentlichungen zur Lezithinbestimmung zeigen, daß auch hier erhebliche Fortschritte zur Vereinfachung und Beschleunigung des Verfahrens gemacht werden konnten und der Vorwurf eines höheren Aufwands (N_4) im Vergleich zur L/S-ratio nicht mehr zutrifft. Das gilt teilweise schon für das vereinfachte Verfahren nach BHAGWANANI et al. (B_2), bei dem die

Lezithine dünn-schichtchromatographisch abgetrennt und nach Abkratzen von der Platte über den Phosphorgehalt colorimetrisch bestimmt werden. NELSON (N_6) gibt sogar eine Beziehung an, die mit hoher Signifikanz ($r = 0,99$) die Abhängigkeit des RDS-Risikos x von der Lezithinkonzentration y beschreibt: $\log y = -0,0101 x - 1,0187$.

Den wesentlichen Fortschritt stellt jedoch der Übergang zur direkten Auswertung (Densitometrie) der Lezithinflecke auf der Dünnschichtplatte dar, da hierdurch eine entscheidende Arbeitserleichterung und -verkürzung erreicht wird. Der Nachteil der etwas geringeren Genauigkeit wird dadurch ausgeglichen, daß die Elution der Lezithine aus der Kieselgelbeschichtung der Dünnschichtplatte entfällt und so der Unsicherheitsfaktor schwankender Wiederfindungsraten umgangen wird. Immerhin gibt BHAGWANANI (B_2) selbst Schwankungen von 86 bis 92%, PARKINSON (P_1) von "not much more than" 80% an, was sich im Ergebnis mit Fehlern von etwa 10% zusätzlich zu den üblichen Meßfehlern widerspiegeln kann. Ein weiterer zeitraubender und fehlerträchtiger Schritt, die zeichnerische Auswertung, läßt sich durch eine automatisierte Auswertung mit Rechenprogramm umgehen.

Ein entscheidender Einwand gegen die Lezithinbestimmung ist die Abhängigkeit der Lezithinkonzentration von der Fruchtwassermenge. Die Untersuchungen von FALCONER et al. (F_2) bestätigen, daß nur in Fällen, in denen der Fruchtwasserlezithingehalt an der kritischen Grenze von 3,5 mg/100 ml Fruchtwasser (B_2) liegt, weit unter dem Durchschnitt liegende Fruchtwassermengen zur Nichterfassung eines RDS-Falles führen könnten. In diesen Grenzfällen empfehlen die Verfasser deshalb die Bestimmung des Fruchtwasservolumens mit p-Aminohippursäure nach CHARLES et al. (C_4), wobei als Grenzwert 20 mg Lezithin/Gesamtfruchtwasservolumen angenommen werden. Ein weiterer Weg, volumenunabhängige Werte zu erhalten, ist die quantitative Bestimmung von Lezithin und Sphingomyelin und die Errechnung einer "mg/mg L/S-ratio" (K_{10}). Nach unseren Erfahrungen ist jedoch die Lezithinbe-

stimmung, abgesehen von Fällen extremer Volumenschwankung (Hydramnion, gesprungene Blase) von ausreichender Genauigkeit, was durch die später zu diskutierenden positiven Ergebnisse bestätigt wird.

So kann abschließend gesagt werden, daß auch heute noch die von uns 1973 genannte Problemstellung (K_8) gilt: gesucht wird eine Methode zur schnellen, direkten und spezifischen Lezithinbestimmung. Bei der hier genannten Literaturstelle handelt es sich um die auszugsweise Vorveröffentlichung der vorliegenden Arbeit, in der die wesentlichen Teile unserer Methode beschrieben worden sind. Unsere weiteren zitierten Arbeiten (D_6 , K_9 , K_{10} , K_{11}) geben die Ergebnisse in der Folgezeit durchgeführter Untersuchungen unter Verwendung dieser (teilweise aber abgewandelten) Methode wieder. Besonders hinzuweisen ist hier auf einen von uns entwickelten spezifischen Schnelltest mit der Kurzbezeichnung KY-Test, der wegen seines minimalen Laboraufwands und der kurzen Untersuchungszeit (weniger als 1 Stunde) von Interesse ist. Seit Anfang 1976 wird ein kompletter Test-Set (KY-Set) vertrieben (Firma LABORGE, Berlin), der die routinemäßige Lungenreifekontrolle in jeder Klinik ermöglicht (K_{11}).

Als Anhang sollen noch einige Angaben über Versuche zur therapeutischen Behandlung des Atemnotsyndroms gemacht werden. Die therapeutischen Konsequenzen aus einer nach L/S-ratio oder Lezithinbestimmung vorhergesagten RDS-Gefährdung besteht zur Zeit in:

- a) Hinausschieben des Geburtszeitpunktes, eventuell unter Tokolyse, bis zum Erreichen bzw. Überschreiten des kritischen Lezithingrenzwertes
- b) Medikamentöse Stimulierung der fetalen Lungenreifung.

Seitdem nachgewiesen werden konnte, daß an die Mutter erfolgte Gaben von Corticosteroiden bei Schaf- und Kaninchenfeten signifikante Erhöhungen der oberflächenaktiven Stoffe in der Lunge bewirken (D_2 , K_5), sind solche Versuche auch am Menschen durchgeführt worden, wenn auch ein Teil der Autoren noch Bedenken äußert (R_3). Dazu konnten LIGGINS et al.

(L₂) erste positive Ergebnisse vorweisen. Nach Gaben von Betamethason an die Mutter mindestens 24 Stunden vor der Geburt, war die Zahl der Fälle mit Atemnotsyndrom auf 1/6 vermindert. ECKERT et al. (E₁) beobachteten einen signifikanten Anstieg des Lecithingehaltes des Fruchtwassers und einen deutlich benigneren Verlauf der Erkrankung nach Cortisongabe. CASPI et al. (C₂) bestätigen diesen Effekt in 12 von 15 untersuchten Fällen. Bereits ab der 28. Woche kann eine Steigerung erreicht werden. Dem stehen Ergebnisse von SIEBERT et al. (S₆) entgegen, der bei einem Kollektiv von 37 Fällen keine Verminderung der RDS-Häufigkeit nach Betamethasongabe beobachten konnte.

LORENZ (L₆, L₇) berichtete über die iv-Applikation von Bromhexine und Bromhexine Metabolit VIII in der 29. bis 32. Woche. Dabei ergab sich, daß erstere Substanz keine, die letztere jedoch eine statistisch gesicherte Erhöhung der L/S-ratio von mehr als 50% hervorrief. Hier zeigen sich damit gute Ansätze für therapeutische Maßnahmen. Weiterführende Untersuchungen des gleichen Autors (L₈) zeigen eine Veränderung der L/S-ratio und des Zielparameters des Dipalmityl-lecithins nach Gaben von Bromhexine Metabolit VIII. Unklar ist noch, ob es sich hierbei um eine Biosynthesebeschleunigung, Umwandlung oder Entspeicherung handelt.

Versuche mit β -Sympatikomimetika sind noch im Versuchsstadium (L₃), die positive Wirkung von Thyroxin (R₁) und Heroin (G₂) auf die Bildung von Phospholipiden konnte nachgewiesen werden, womit sich zeigt, daß hier sehr unterschiedliche Substanzen wirksam sind. Zur postnatalen Therapie werden u.a. Xantinolnikotinat (K₂) und Hydergin (K₁) verwendet.

2. Material und Methode

In diesem Kapitel wird die Methodendurchführung so ausführlich beschrieben, daß ein Nacharbeiten jederzeit möglich ist. Die Auswertung enthält auch eine Durchführungsanleitung für die Computerberechnung und einige Rechenbeispiele.

2.1. Prinzip

Die Abtrennung der Lezithine erfolgt durch Extraktion des Fruchtwassers, anschließende Dünnschichtchromatographie des Extraktes mit direkter Auswertung durch Messung der Remission (Densitometrie) und Berechnung des Gehaltes über ein Tischrechnerprogramm. Das Verfahren läßt sich dabei in vier Schritte aufgliedern:

- a) Extraktion des Fruchtwassers und Herstellung der Eichlösungen
- b) Auftragung der Extrakte und Standards, Entwicklung und Färbung der Dünnschichtplatten
- c) Densitometrische Messung
- d) Berechnung der Lezithingehalte des Untersuchungsmaterials durch Vergleich mit Eichlösungen über ein Tischrechnerprogramm.

2.2. Reagenzien und Probenzubereitung

Als Eichstandards dienen Lösungen von Lezithin aus Eiern, reinst (MERCK) oder 1,2-Dipalmityl-lezithin, reinst (FLUKA) mit einem Gehalt von 0,01 µg/µl bis 0,12 µg/µl, gelöst in Chloroform/Methanol/Wasser (65/25/4 v/v/v). Zur Anfärbung wird Jod, doppelt sublimiert und ein Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteus (MERCK) verwendet. Für die Dünnschichtchromatographie dienen 20x20 cm DC-Fertigplatten Kieselgel 60 ohne Fluoreszenzindikator (MERCK). Alle sonstigen Reagenzien und Lösungsmittel sind analysenrein (p.a.-Qualität).

Als Eichstandards für die Lezithinbestimmung werden 4 Lösungen von 0,01; 0,02; 0,04 bzw. 0,08 $\mu\text{g Lec}/\mu\text{l}$, gelöst in Chloroform, verwendet. Bezeichnung: LC 1 bis LC 4.

Für die Bestimmung des L/S-Quotienten (siehe Kap. 29) dient ein Lezithin-Sphingomyelin-Mischstandard mit 0,20 $\mu\text{g Lec}/\mu\text{l}$ und 0,05 $\mu\text{g Sp}/\mu\text{l}$, gelöst in Chloroform. Bezeichnung: LSP.

Die durch transabdominale oder transvaginale Amniozentese oder durch Punktion der Fruchtblase bei Blaseneröffnung gewonnenen Fruchtwasserproben werden sofort zentrifugiert (10 min, 3000 U/min), um Schwebstoffe, Blut und Mekonium abzutrennen. Danach werden die Proben entweder, wie nachfolgend beschrieben, extrahiert oder sofort auf -20°C eingefroren. Der erste Weg ist nach Möglichkeit vorzuziehen, da die Extrakte bei Lagerung bei 0° bis 5°C über Wochen haltbar sind.

23 Extraktion der Proben

Jeweils 2,0 ml Fruchtwasser, 4,0 ml Methanol und 4,0 ml Chloroform werden sorgfältig in ein graduiertes 10-ml-Zentrifugengläschen mit Stopfen pipettiert. Wenn wenig Fruchtwasser vorhanden ist, können die Mengen der einzelnen Komponenten beliebig vermindert werden, wenn das Mischungsverhältnis 1:2:2 v/v/v gewahrt bleibt. Selbst 0,25 ml reichen für die Bestimmung aus. Zur Ermöglichung einer genauen Volumenablesung sind dann jedoch graduierte 1-ml-Zentrifugengläschen zu benutzen.

Die fest verschlossenen Zentrifugengläschen werden mit einer Schüttelmaschine 5 min kräftig geschüttelt. Danach läßt man bis zur vollständigen Phasentrennung absetzen. Dieser Prozeß kann durch Zentrifugieren (5 min, 1000 U/min) beschleunigt werden. Danach wird das Volumen der Chloroform-Phase (untere !) abgelesen und notiert, da dieser Wert für die spätere Gehaltsberechnung benötigt wird. Bei einem Extraktionsvolumen von 2:4:4 ml ergibt sich im Mittel $5,13 \pm 0,09$ ml (als Mittelwert aus 146 Versuchen berechnet).

24 Vorbereitung der Dünnschichtplatten

Auf den Dünnschichtplatten werden mit Bleistift 12 je 1,5 cm breite Bahnen markiert, die Startpunkte bei 3 cm Höhe eingezeichnet und bei 12 cm eine Stoplinie eingekratzt, so daß sich Laufstrecken von 9 cm ergeben. Die Bahnen 2, 5, 8 und 11 sind für die Eichlösungen LC 0,5; LC 1; LC 2 und LC 4 vorgesehen, die 0,01; 0,02; 0,04 bzw. 0,08 μg Lec/ μl enthalten, so daß bei jeweils 50 μl Auftragsmenge die einzelnen Eichflecken 0,5; 1,0; 2,0 bzw. 4,0 μg Lecithin enthalten. Es ist sinnvoll und zeitsparend, die Eichlösungen in größeren Serien aufzutragen und die Platten in verschlossenen Chromatographietanks zu lagern, so daß zum Zeitpunkt der Analyse nur noch die Fruchtwasserextrakte nachgetragen werden müssen. Abb. 2 zeigt ein Muster einer solchen Platte nach Elution und Jod-Färbung.

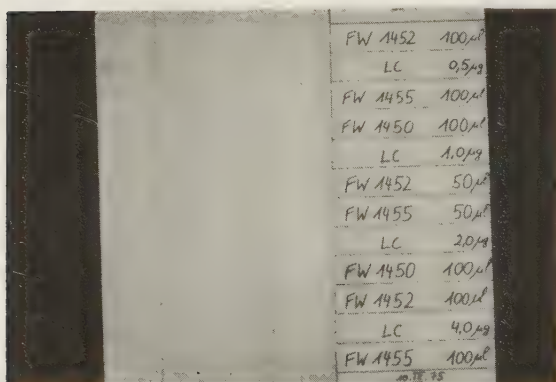


Abb. 2: Muster einer Dünnschichtplatte nach Elution und Jod-Färbung

25 Auftragsung

Zur Auftragsung wird eine AGLA Mikrometerspritze (VETTER) mit 5 cm langer Stahlspitze benutzt, die in ein in Höhe und Neigungswinkel verstellbares Stativ eingespannt werden kann. Eine Umdrehung der Mikrometerschraube entspricht 10 μl . Zur Reinigung wird die Spritze erst mit Methanol, dann viermal mit kleinen Mengen der zu applizierenden Lösung gespült. Dann wird die Spitze der Spritze in die Chloroformphase (untere !) der Extraktionslösung eingestochen und langsam gefüllt, von Luftblasen befreit und auf "0" gestellt. Die Spritze wird in das Stativ eingespannt und dann bis zum festen aber kratzfreien Kontakt auf die Dünnschichtplatte abgesenkt. Diese liegt auf einer Heizplatte und ist auf etwa 80°C temperiert, wodurch die Auftragszeit wesentlich verkürzt wird. Für jede Fruchtwasserprobe sind mindestens drei Auftragsungen vorzunehmen. Üblicherweise werden 100 μl , bei Proben mit hohem Lezithingehalt 50 μl , bei solchen mit sehr geringem 200 μl aufgetragen. Die Spritze darf sich während des Auftragsens nicht erwärmen. Der Durchmesser des Auftragsungsfleckes darf 5,0 mm nicht überschreiten, was durch gleichmäßiges, langsames Drehen der Mikrometerschraube erreicht werden kann. Abb. 3 zeigt das wichtigste Zubehör für Auftragsung und Entwicklung.

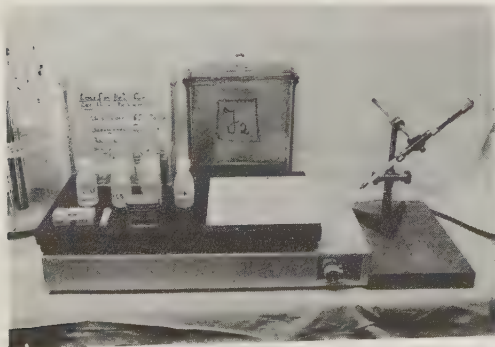


Abb. 3: Zubehör für Auftragsung und Entwicklung der Dünnschichtplatten

26 Entwicklung und Anfärbung der Dünnschichtplatten

Nach dem Auftragen läßt man die Platten abkühlen und stellt sie dann zur Laufmittelbehandlung in den Chromatographietank. In diesen muß vorher das Laufmittel gegeben werden, das außerhalb des Tanks durch intensives Mischen von 65 ml Chloroform, 25 ml Methanol und 4,0 ml Wasser (Pipette) täglich frisch angesetzt wird. Bei fest verschlossenem Deckel läßt man das Laufmittel bis zu der auf der Dünnschichtplatte eingekratzten Grenze steigen, die nach etwa 80 min erreicht ist. Die Platte darf nicht länger im Tank verbleiben, da die Flecken sonst verlaufen.

Nach dem Herausnehmen läßt man die Platte 5 min abdunsten und stellt sie vorsichtig in einen Tank mit gesättigter Joddampf-Atmosphäre. Diese entwickelt sich, wenn einige Gramm Jod im verschlossenen Tank aufbewahrt werden. Wenn nach einigen Minuten die gelbbraunen Lezithinflecken (R_f -Wert ca. 0,3) gut sichtbar sind, der Plattenuntergrund aber noch hell erscheint, wird die Platte entnommen und in Höhe der Flecken gleichmäßig mit dem Phenolreagenz nach Folin-Ciocalteu (MERCK) unter Verwendung einer Sprühdose (Spraygun DESAGA) angesprüht, daraufhin färben sich die Flecken graublau.

27 Densitometrische Messung

Die Messungen werden wahlweise mit Hilfe einer Apparatekombination, bestehend aus einem Spektralfotometer PMQ II-ZEISS und einem Z-Scanner der Firma CAMAG oder einem Chromatogramm-Spektralfotometer der Firma ZEISS durchgeführt. Die Meßanordnung ist schematisch in Abb. 4 dargestellt, Abb. 5 zeigt die Gesamtansicht des letztgenannten Gerätes, Abb. 6 den Meßkopf mit darunterliegender Dünnschichtplatte.

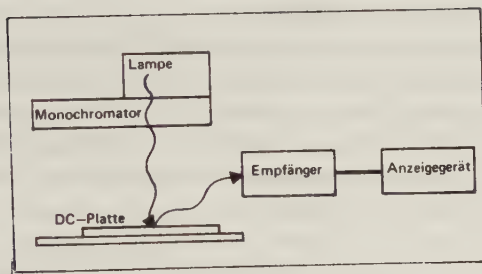


Abb. 4: Schematische Darstellung der Meßanordnung zur Densitometrie

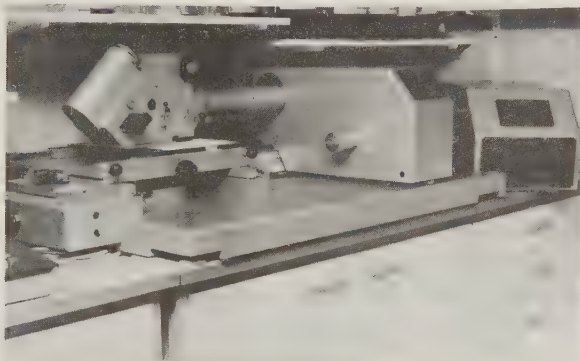


Abb. 5: Gesamtansicht des Chromatogramm-Spektrofotometers "ZEISS"

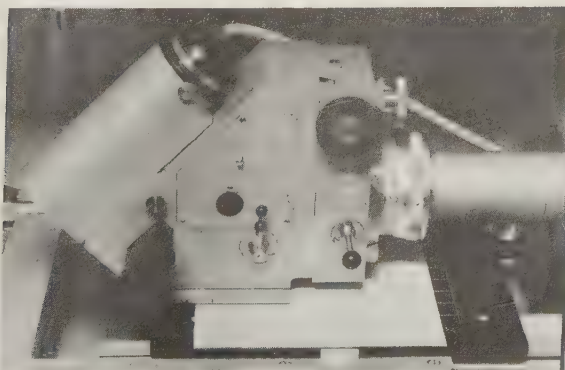


Abb. 6: Meßkopf mit Dünnschichtplatte

Netzgerät (Glühlampe) und Anzeigegerät werden eingeschaltet und die Wellenlänge auf 560 nm und der Monochromatorspalt auf 0,4 mm eingestellt. Auf der Rückseite der Dünnschnittplatte (bzw. an deren Rand) werden die graublauen Flecken der Eichlösungen und Meßproben unterschiedlich markiert und so die Auswertung erleichtert. Nach Einspannen der Platte in den Z-Scanner (bzw. Auflegen auf den Meßtisch) und Freigabe des Strahlenganges wird der Lichtfleck zwischen zwei Lezithinflecke und der Remissionswert des Untergrundes R_u durch Veränderung der Empfindlichkeit auf 90% (obere Skala) gebracht. Die Remissionswerte in den Fleckenzentren R_p und die zugehörigen Untergrundwerte werden dann fortlaufend gemessen und im Protokoll notiert. Dabei wird der R_u -Wert vor jeder Fleckenmessung wieder auf 90% justiert. Umfangreiche Untersuchungen haben gezeigt (K_7), daß der Meßfehler geringer ist, wenn nicht der Remissionswert des gesamten Fleckenareals, sondern nur das mit flächenkonstantem Rechteckspalt (3,5 x 6mm) gemessene Remissionsminimum im Fleckenzentrum R_p bestimmt wird. Die Untergrundkorrektur ist gerade bei Messungen im sichtbaren Bereich nach Anfärbung wichtig, da der Untergrund an verschiedenen Stellen der Platte unterschiedlich gefärbt sein kann.

28 Auswertung und Berechnung

Aus den Meßwerten R_p und R_u wird mit Hilfe eines Tischrechners Hewlett-Packard 9810 A mit Statistik- und Alpha-Block eine Eichgerade und anhand dieser der Gehalt der Analysenproben errechnet. Die theoretischen Grundlagen der Berechnungen sollen hier kurz erläutert werden.

Für diffuse Reflexion gilt nach KUBELKA und MUNK (K_6):

$$\frac{(1 - R_\infty)^2}{2 R_\infty} = \frac{k}{s} \quad \text{und} \quad R_\infty = \frac{R_{p,u}}{100}$$

Label ist R_∞ das bei unendlicher Schichtdicke gemessene Reflexionsvermögen (Remissionswert), k der Absorptions- und

s der Streukoeffizient. Für Dünnschichtplatten ist die Bedingung unendlicher Schichtdicke praktisch erfüllt. Zwischen den k/s-Werten und der Substanzmenge G in den Flecken besteht eine lineare Abhängigkeit, die sich auch in der Praxis in gewissen Grenzen bestätigt. So läßt sich aus den mitgelaufenen Eichlösungen eine Eichgerade der Form

$$y = m \cdot x + b$$

entwickeln, wobei hier

$$x = \frac{1}{2} \cdot \left[\frac{100}{R_p} + \frac{R_p}{100} - \left(\frac{100}{R_u} + \frac{R_u}{100} \right) \right]$$

und $y = G$

ist.

Daraus folgt:

$$G = \frac{1}{2} \cdot M \left[\frac{100}{R_p} + \frac{R_p}{100} - \left(\frac{100}{R_u} + \frac{R_u}{100} \right) \right] + B$$

Da G , R_p und R_u für die Eichflecken bekannt sind, kann so die Steigung M der Eichgerade und ihr Abschnitt auf der Ordinate B mit Hilfe eines Rechnerprogramms berechnet werden. Die Gehalte der Analysenproben ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$ Auftragungsmenge) ermittelt der Rechner danach aus der Eichgerade.

Abb. 7 zeigt das auf einem Druckstreifen ausgedruckte Programm, das zur ständigen Wiederbenutzung auf einer Magnetkarte gespeichert wird.

In Abb. 8 wird der vom Tischrechner für eine Dünnschichtplatte ausgedruckte Ergebnisstreifen dargestellt. Die linke Spalte zeigt im oberen Teil Remissionswerte und Einwaagemengen der 4 Eichflecken in der Reihenfolge (von oben nach unten): Remissionswert des Eichflecks (R_p), Remissionswert des Untergrunds (R_u) und Einwaage pro Fleck (G). Darunter folgen die Angaben über die Zahl der Eichpunkte, die errechnete Regressionsgerade (REGR.) mit Steigung (M) und Ordinatenabschnitt (B) und den Korrelationskoeffizienten (CORREL). Die rechte Spalte zeigt die eingegebenen Remissionswerte R_p und R_u und die daraus errechneten Gehalte (E) für die Meßflecken in $\mu\text{g}/\text{Fleck}$.

0000--FMT---12	0067--KEY---30	0134--C---13	
0001--FMT---32	0068--NFR---67	0135--C---31	
0002--D---46	0069--C---00	0136--CNT---47	
0003--C---31	0070--C---03	0137--KEY---52	
0004--C---02	0071--C---07	0138--M---70	
0005--C---34	0072--C---35	0139--CNT---47	0201--L---72
0006--C---56	0073--RUP---22	0140--I/X---17	0202--E---60
0007--C---13	0074--KEY---30	0141--H---73	0203--C---61
0008--C---71	0075--C---13	0142--D---63	0204--K---55
0009--C---15	0076--DIV---35	0143--CNT---47	0205--FMT---42
0010--C---13	0077--YTO---40	0144--B---66	0206--STP---41
0011--C---31	0078--C---00	0145--PSE---57	0207--IFG---43
0012--CNT---17	0079--C---03	0146--FMT---42	0208--C---00
0013--C---55	0080--C---10	0147--E---60	0209--C---02
0014--NFR---67	0081--KEY---30	0148--PNT---45	0210--C---05
0015--C---34	0082--I/X---17	0149--KEY---30	0211--C---10
0016--C---36	0083--KEY---00	0150--PNT---45	0212--KEY---30
0017--C---34	0084--NFR---67	0151--XTO---23	0213--PNT---45
0018--NFR---67	0085--C---00	0152--C---00	0214--RNF---32
0019--C---00	0086--C---03	0153--C---03	0215--C---13
0020--C---65	0087--C---10	0154--C---07	0216--DIV---35
0021--H---73	0088--C---33	0155--YTO---40	0217--YTO---40
0022--C---15	0089--DN---25	0156--C---00	0218--C---14
0023--C---21	0090--KEY---30	0157--C---03	0219--KEY---30
0024--C---34	0091--C---34	0158--C---10	0220--I/X---17
0025--C---34	0092--C---02	0159--FMT---42	0221--KEY---30
0026--C---13	0093--DIV---35	0160--FMT---42	0222--C---14
0027--C---36	0094--C---14	0161--C---61	0223--C---33
0028--EEN---26	0095--PNT---45	0162--C---71	0224--C---13
0029--C---13	0096--PNT---45	0163--C---13	0225--RUP---22
0030--I/X---17	0097--CNT---47	0164--C---13	0226--PNT---45
0031--EEN---26	0098--C---71	0165--E---60	0227--DIV---35
0032--C---15	0099--GTO---44	0166--L---72	0228--YTO---40
0033--PSC---57	0100--C---00	0167--C---21	0229--C---14
0034--CLR---20	0101--C---00	0168--FMT---42	0230--C---14
0035--CLR---20	0102--C---04	0169--B---66	0231--I/X---17
0036--FMT---42	0103--C---02	0170--C---76	0232--C---33
0037--CLR---20	0104--FMT---42	0171--PNT---45	0233--DN---25
0038--C---55	0105--FMT---42	0172--PNT---45	0234--C---34
0039--K---02	0106--XSQ---12	0173--PNT---45	0235--C---02
0040--A---62	0107--A---62	0174--FMT---42	0236--DIV---35
0041--C---71	0108--H---74	0175--FMT---42	0237--NFR---67
0042--STP---41	0109--L---72	0176--E---60	0238--C---00
0043--IFG---13	0110--CNT---47	0177--SFL---54	0239--C---03
0044--C---00	0111--D---63	0178--M---70	0240--C---07
0045--C---01	0112--C---21	0179--E---60	0241--C---34
0046--C---00	0113--CNT---47	0180--YTO---40	0242--NFR---67
0047--C---04	0114--E---60	0181--YTO---40	0243--C---00
0048--XTO---23	0115--C---65	0182--IND---31	0244--C---03
0049--C---14	0116--C---61	0183--E---60	0245--C---10
0050--C---01	0117--H---74	0184--C---13	0246--DIV---35
0051--C---00	0118--C---56	0185--XTO---23	0247--DN---25
0052--C---06	0119--C---55	0186--E---60	0248--FMT---42
0053--XTO---23	0120--XTO---23	0187--CNT---47	0249--FMT---42
0054--C---13	0121--C---21	0188--C---65	0250--E---60
0055--RUP---22	0122--FMT---42	0189--H---73	0251--CNT---47
0056--PNT---45	0123--NFR---67	0190--CLR---20	0252--SFL---54
0057--RUP---22	0124--C---00	0191--M---70	0253--CNT---47
0058--PNT---45	0125--C---00	0192--C---65	0254--FMT---42
0059--RUP---22	0126--C---00	0193--C---55	0255--PNT---45
0060--DIV---35	0127--PNT---45	0194--C---13	0256--PNT---45
0061--YTO---40	0128--PNT---45	0195--C---71	0257--PNT---45
0062--C---00	0129--FMT---42	0196--C---5	0258--GTO---44
0063--C---03	0130--FMT---42	0197--C---13	0259--C---02
0064--C---07	0131--C---13	0198--C---21	0260--C---00
0065--KEY---30	0132--E---60	0199--DIV---35	0261--C---06
0066--I/X---17	0133--C---15	0200--C---16	0262--END---46

Abb. 7: Programmstreifen (Original)

2001 P.1.1. 111100
(EING.--RP+RU+G)

88.0000
90.0000
0.5000

86.7000
90.0000
1.0000

83.1000
90.0000
2.0000

78.5000
90.0000
4.0000

ZAHL D. E:CHPKT.
4.0000

REGR. (M UND B)
0.0058
-0.0005

CORREKT
0.9985

E=MESSWERT IN
MIKROGR./FLECK

84.5000
90.0000

E = 1.5785*

84.4000
90.0000

E = 1.6130*

84.6000
90.0000

E = 1.5443*

Die errechneten Eichgeraden lassen sich auch vollautomatisch graphisch darstellen, wenn an den Rechner HP 9810 A ein Schreiber (graphic-plot mod. 89862 A) angeschlossen wird. Abb. 9 zeigt Rechner und Plotter.

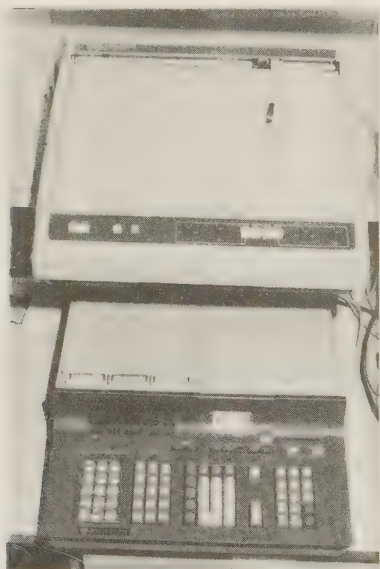


Abb. 9: Tischrechner und Plotter der Firma
HEWLETT-PACKARD

Es wurde ein Programm entwickelt, mit dessen Hilfe die Eichkurven für Lezithin und ggf. auch für Sphingomyelin ohne zusätzlichen Arbeitsaufwand in wenigen Minuten ausgedruckt werden kann. Abb. 10 stellt das Original der vom Plotter gelieferten Eichkurve dar. So läßt sich schnell und anschaulich erkennen, welche Qualität die Eichkurve besitzt und wo die Meßpunkte liegen. Die Eichpunkte sind als Kreuze, die Meßpunkte als Rechtecke gekennzeichnet. Durch den vom Plotter automatisch eingefügten Text eignet sich die Darstellung auch gut zur Dokumentation und Demonstration und kann auch direkt fotografiert und so in Form eines Dias dargestellt werden.

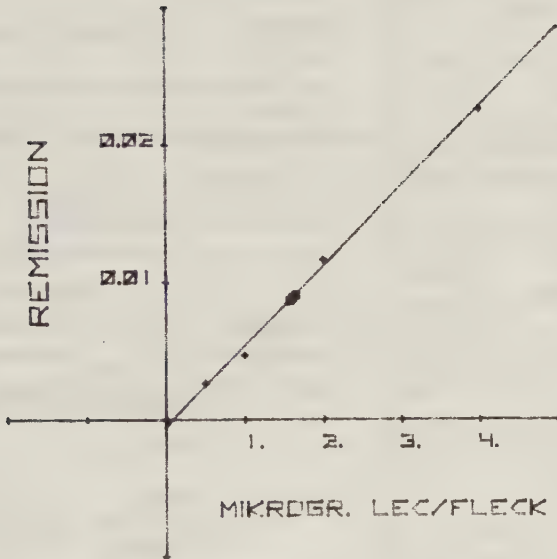


Abb. 10: Vom Plotter geschriebene Eichkurve (Original)

Um alle für die spätere Auswertung eventuell wichtigen Patienten- und Meßdaten festhalten zu können, sind Formblätter entwickelt worden. Abb. 11 zeigt das Original des (gelben) Patientenblattes, in das alle für die spätere Auswertung wichtigen Daten eingetragen werden. Hierzu gehören von Seiten der PatientIn besonders: letzte Regel, errechneter Termin, errechnete Gestationswoche bei Fruchtwasserentnahme, Art der Fruchtwasserentnahme, Beschreibung des Fruchtwassers. Von Seiten des Kindes: Art der Geburt, Kindsmaße und Kindszustand und die Beantwortung der Frage, ob Reanimation oder eine Verlegung des Kindes erforderlich waren.

Ein weiteres (grünes) Formblatt (Abb. 12) zur Beurteilung der Lungenreife begleitet das numerierte Fruchtwasser auf seinem Weg zum und zurück vom Labor und nimmt die erhaltenen Meßdaten auf. Es gelangt danach in die Hände des dienst-

Probe Nr.:

Krankenblatt Nr.:

Station: letzte Regel: Termin:

Name: Alter:

Vorname: para:

Datum der Entnahme:

Datum der Geburt:

Gestationswoche bei Geburt: errechnet: nach Farr: Petrusa:

Gestationswoche bei Probenahme:

Art der FW-Entnahme:

transabdominale Amniozentese

transvaginale Amniozentese

durch Mikropunktion.....

Punktion der Fruchtblase bei Blasenöffnung.....

Beschreibung des FW:

klar.....

milchig.....

frische Blutbeimengungen.....

ältere (bräunl.) Blutbeimengung

Mekoniumbeimengungen:

frisch (geformt od. flockig)...

alt (aufgelöst).....

wenig (grünlich).....

reichlich (dunkelgrün).....

Menge gewonnen. FW:..... ml

Osmolarität:..... mosmol

Oberflächenspannung dyn/cm

Schaumtest nach CLEMENTS:

1	2	3	4	5

+ = vollst. Schaumring = 1 Pkt.
 (+) = teilweiser " = 0.5 Pkt.
 - = kein Schaum = 0 Pkt.

Gesamtpunktzahl: Punkte

13. Densitometrische Lazithin-Bestimmung nach KYNAST - SALING:

Analyse	1	2	3	4
mg/100ml FW				
Mittelwert:.....	mg/l			

14. Art der Geburt

Sp	Ve	Sect	Forc	♂

15. Kindsdaten: Placenta:

Kindsgewicht: Länge:

NKI: GLR: Gewicht/Länge:

16. Zustand des Kindes:

A-Wert: K-Wert:

Reifepunkte:

pH-Wert: akt: Q40:

War Reanimation nötig?

Kind verlegt?

Komplikationen i.d. Neugeborenenperiode?

17. Besonderheiten:

Prüfung der fetalen Lungenreife (FLR)

Name:

Vorname:

Fruchtwasser Nr.:

Datum der Entnahme:

Datum der Untersuchung:

Gestationswoche:

1) Schaumtest nach CLEMENTS:

Punkte

Beurteilung:

> 1,5 Pkt = FLR ausreichend
 ≤ 1,5 Pkt = FLR nicht gesichert

3) Densitometrie nach KYNAST-SALING:

3.1 Lec.-Gehalt:

mg/100 ml

Beurteilung:

> 3,0 mg/100 ml = FLR ausreichend
 2,0-3,0 mg/100 ml = kritisch
 < 2,0 mg/100 ml = FLR nicht ausreichend

3.2 L/S-Quotient:

mg/mg

Beurteilung:

> 1,9 mg/mg = FLR ausreichend
 1,5-1,9 mg/mg = kritisch
 < 1,5 mg/mg = FLR nicht ausreichend

2) KY-Test:

Beurteilung:

> 1,9 = FLR ausreichend
 1,5-1,9 = kritisch
 < 1,5 = FLR nicht ausreichend

Bemerkungen:

Unterschrift:

Abb.12: Analysen - Begleitzettel für FW zur Lungenreife - Bestimmung (Original)

habenden Arztes, der so die Lungenreife beurteilen kann. Zur Erleichterung der Beurteilung ist ein Beurteilungsschema eingefügt. Diese Blätter werden in den Krankenakten abgelegt.

Ein weiteres Formblatt, in das die bei der Messung der Dünnschichtplatten erhaltenen Remissionswerte und Gehalte der Standard- und der Meßproben eingetragen werden ist hier nicht abgebildet.

281 Bedienung des Rechners

Nach Einschalten des Gerätes wird RUN/END/LOAD gedrückt, danach die Magnetkarte mit dem Programmtitel "DC 2 Progr. Ky-6-" eingegeben, die Kommastellenzahl mit FIX/4 gewählt, dann durch Betätigung der Tasten END/CONTINUE das Programm aufgerufen und der Titel ausgedruckt. Danach werden die Dreierzahlengruppen für die Eichlösungen in folgender Reihenfolge eingegeben:

1. Remissionswert Fleck R_p /SHIFT UP
2. Remissionswert Untergrund R_u /SHIFT UP
3. zugehörige μg -Menge Lezithin/CONTINUE

Man achte auf die richtige Wahl der Befehle SHIFT UP zum Speicherwechsel und CONTINUE zur Verarbeitung der eingegebenen Daten. Die Dreierzahlengruppen werden ausgedruckt und können kontrolliert werden. Wenn nach diesem Schema die Dreierzahlengruppen für alle Eichflecken eingegeben worden sind, wird der Rechner durch Betätigung der Taste SET FLAG/CONTINUE zur Ermittlung der Remissionsgerade veranlaßt. Der Rechner druckt u.a. die Korrelation (CORR.) aus, die nicht unter 0,92 liegen soll. Wenn doch, so ist wahrscheinlich einer der Eichwerte fehlerhaft. Die Auswertung sollte dann unter Weglassung dieses Wertes wiederholt werden.

Zur Auswertung der Analysenflecken wird der Remissionswert des Fleckes R_p eingegeben, SHIFT UP gedrückt, dann der Remissionswert des zugehörigen Untergrundwertes R_u eingetastet und durch Drücken von CONTINUE der Vergleich der eingegeben-

en Werte mit der gespeicherten Eichgerade vorgenommen. Der Rechner druckt dann den Gehalt der Analysenprobe (E) in μg Lezithin/Fleck. Der Vorgang wird für jeden Analysenfleck wiederholt.

252. Gehaltsberechnung mit Rechenbeispielen

Da jedes Fruchtwasser mehrmals aufgetragen wird, werden die erhaltenen Werte zuerst gemittelt. Hierzu kann das im Statistik-Block des Rechners gespeicherte Mittelwertprogramm verwendet werden. Danach wird unter Berücksichtigung der Volumenänderung bei der Extraktion auf die Dimension mg Lezithin/100 ml Fruchtwasser umgerechnet. Hierfür gilt die allgemeine Formel:

$$\frac{a \times b \times 100}{c \times d} = \text{mg Lezithin/100 ml FW}$$

dabei bedeutet:

- a = gemessener Lezithingehalt (μg /Fleck)
- b = Volumen des Chloroformextraktes (ml)
- c = pro Fleck aufgetragene Menge des Chloroform-Extraktes (μl /Fleck)
- d = Fruchtwassermenge (ml)

Für eine Fruchtwassermenge von $d = 2,0$ ml und eine aufgetragene Extraktmenge von $c = 50 \mu\text{l}$ /Fleck vereinfacht sich diese Formel zu:

$$a \times b = \text{mg Lezithin/100 ml FW}$$

Der Rechengang soll an zwei Beispielen erläutert werden. Für einen gemessenen Lezithingehalt von $a = 1,27 \mu\text{g}$ /Fleck ergeben sich je nach Größe der Werte b, c und d folgende Lezithingehalte:

1. Beispiel:

$$\begin{array}{lcl} a = & 1,27 \mu\text{g/Fleck} & \\ d = & 2,0 \text{ ml} & \\ b = & 5,15 \text{ ml} & \\ c = & 100,0 \mu\text{l/Fleck} & \end{array} \quad \frac{1,27 \times 5,15 \times 100}{100 \times 2,0} = \underline{3,27 \text{ mg/100 ml FW}}$$

2. Beispiel:

a = 1,27 $\mu\text{g}/\text{Fleck}$

b = 1,0 ml

c = 2,50 ml

d = 100,0 $\mu\text{l}/\text{Fleck}$

$$\frac{1,27 \times 2,50 \times 100}{50 \times 1,0} = 6,35 \frac{\text{mg}}{100 \text{ ml FW}}$$

29 Variation der Methode zur Bestimmung der L/S-Quotienten

Wie bereits im Literaturteil erwähnt, wurde aus der vorliegenden Methode eine Bestimmung zur "mg/mg L/S-ratio" entwickelt, die die Bestimmung von Lecithin und Sphingomyelin ermöglicht (K_{10}). Eine genauere Untersuchung zu diesem Problem ist noch in Arbeit (M_7). Hier soll nur das Prinzip dieses Verfahrens geschildert werden:

Das Fruchtwasser wird wie üblich in den in Kap. 23 angegebenen Mengenverhältnissen extrahiert und nach Phasentrennung das Volumen der Extraktionslösung abgelesen. Danach werden 3,0 ml Chloroformphase (untere !) abpipettiert und im Wasserbad (95°C) auf ein Volumen von 0,5 bis 0,8 ml eingedampft. Das genaue Volumen wird auf der Graduierung des Zentrifugenglases abgelesen. Von dem eingedampften Extrakt werden jeweils 50 oder 100 μl auf DC-Platten aufgetragen. Zur Eichung wird ein Lecithin-Sphingomyelin-Mischstandard LSP mit einem Gehalt von 0,20 μg Lec/ μl und 0,05 μg Sp/ μl verwendet. Abb. 13 gibt die Arbeitsgänge schematisch wieder,

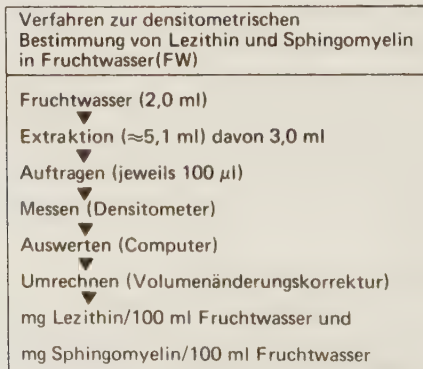


Abb. 13: Arbeitsgänge zur Bestimmung des L/S-Quotienten

Abb. 14 zeigt eine DC-Platte nach Anfärbung mit dem Folin-Reagenz.

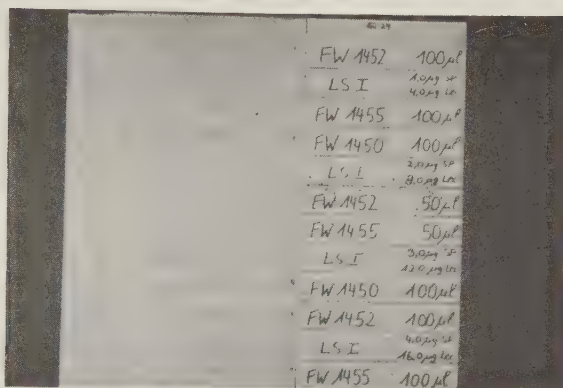


Abb. 14: DC-Platte zur Bestimmung des L/S-Quotienten nach Anfärbung mit dem Folin-Reagenz

Das weitere Vorgehen unterscheidet sich nicht vom bereits beschriebenen Verfahren. Zur Berechnung wird die in Kap. 282 angegebene Formel entsprechend der Änderung der Methode wie folgt variiert:

Es gilt die allgemeine Formel:

$$\frac{a \times b \times c \times 100}{d \times e \times 3,0} = \text{mg Lec bzw. Sp/100 ml FW}$$

dabei bedeutet:

- a = gemessener Lec- bzw. Sp-Gehalt (µg/Fleck)
- b = Volumen des Chloroformextraktes (ml)
- c = Volumen des abpipettierten Extraktes nach Eindampfung (ml)
- d = pro Fleck aufgetragene Menge von c (µl)
- e = Fruchtwassermenge (ml)

Beispiel:

$$a = 3,31 \mu\text{g Lec/Fleck}$$

$$b = 5,10 \text{ ml}$$

$$c = 0,80 \text{ ml}$$

$$d = 100 \mu\text{l}$$

$$e = 2,0 \text{ ml}$$

$$\frac{3,31 \times 5,10 \times 0,80 \times 100}{100 \times 2,0 \times 3,0} = 2,25 \text{ mg Lec/100 ml FW}$$

3 Ergebnisse und Diskussion

Zur Überprüfung und Beurteilung der in Kap. 2 beschriebenen Meßmethode sind eine Reihe von gezielten Messungen durchgeführt worden, die im folgenden Kapitel beschrieben und gewertet werden sollen. Daneben werden Schlußfolgerungen aus den im Routinebetrieb erhaltenen Ergebnisse gezogen.

3.1 Meßgenauigkeit

Zur Beurteilung der Meßgenauigkeit wurden die Standardabweichung in verschiedenen Konzentrationsbereichen, die Wiederfindungsrate und die Grenzkonzentration bestimmt. Tab. 1 gibt die Meßergebnisse von 21 Untersuchungen bei der Bestimmung der Standardabweichung in einem Fruchtwasser mit sehr geringem Lezithingehalt wieder.

Probe Nr.	mg Lec/100 ml FW	Probe Nr.	mg Lec/100 ml FW
1	0,97	12	0,73
2	0,47	13	0,80
3	0,53	14	0,82
4	0,45	15	0,83
5	0,70	16	1,01
6	0,63	17	0,55
7	0,46	18	0,82
8	0,65	19	0,61
9	0,46	20	0,78
10	0,57	21	0,78
11	0,69		
Mittelwert : 0,68 mg Lec/100 ml FW			
Standardabweichung			
absolut : 0,16 mg Lec/100 ml FW			
relativ : 24,0 %			

Tab. 1: Standardabweichung der Bestimmungsmethode in Fruchtwasser mit niedrigem Lezithingehalt

In Tab. 2 sind Meßergebnisse von 25 Untersuchungen der gleichen Größen für ein Fruchtwasser mit höherem Lecithingehalt zu finden.

Probe Nr.	mg Lec/100 ml FW	Probe Nr.	mg Lec/100 ml FW
1	2,94	14	3,59
2	2,94	15	3,55
3	2,93	16	3,65
4	3,11	17	3,00
5	3,24	18	2,86
6	2,88	19	2,90
7	2,73	20	2,81
8	2,85	21	2,97
9	2,62	22	3,00
10	2,73	23	3,04
11	3,52	24	3,03
12	3,00	25	3,60
13	3,24		
Theoretischer Gehalt : 3,18 mg Lec/100 ml FW			
Gemessener Gehalt : 3,07 mg Lec/100 ml FW			
Mittlere Wiederfindungsrate : 96,54 %			
Standardabweichung			
absolut : 0,30 mg Lec/100 ml FW			
relativ : 9,68 %			

Tab. 2: Wiederfindungsrate und Standardabweichung für ein Fruchtwasser mit definiertem Lecithingehalt

Aus dem Vergleich der Tabellen läßt sich entnehmen, daß sich die Standardabweichung, die im untersten Meßbereich noch 24% beträgt, im mittleren Meßbereich auf 9,7% verbessert, Im oberen Meßbereich beträgt sie 12% (K_8).

Die in Tab. 2 dargestellten Ergebnisse wurden mit einem Fruchtwasser erhalten, das 0,68 mg Lec/100 ml FW enthielt

und dem 2,50 mg Lec/100 ml künstlich zugemischt wurden, so daß theoretisch ein Wert von 3,18 mg Lec/100 ml FW erhalten werden müßte. Durch Vergleich dieses theoretischen Wertes mit dem praktisch erhaltenen Mittelwert von 3,07 mg Lec/100 ml FW läßt sich die mittlere Wiederfindungsrate mit 96,6% angeben.

Die Grenzkonzentration, d.h. die gerade noch nachweisbare Menge Lezithin im Fruchtwasser, beträgt für die maximal vertretbare Auftragungsmenge von 200 µl Extrakt pro Fleck 0,4 mg Lec/100 ml FW. Sie kann jedoch auf etwa 0,1 mg Lec/100 ml FW gesenkt werden, wenn der Chloroformextrakt vor der Auftragung eingeengt wird. Da die Fruchtwasser-Lezithin-Konzentrationen üblicherweise wesentlich höher liegen, ist ein solcher Eindampfungsschritt nur in Sonderfällen erforderlich.

32 Kosten und Zeitaufwand

An Großgeräten für die Durchführung der Methode sind erforderlich:

PMQ II (ZEISS)	: 15.000,-- DM
Z-Scanner (CAMAG)	: 5.000,-- DM
Tischrechner (HEWLETT-PACKARD)	: 18.000,-- DM
Zubehör (Zentrifuge, Schüttelmaschine, Wasserbad, Heizplatte, Trockenschrank)	: 10.000,-- DM
Gesamtanschaffungskosten	<u>48.000,-- DM</u>

Bei Verwendung eines Chromatogramm-Spektrofotometers der Firma ZEISS (Abb. 5) statt der Kombination PMQ II/Z-Scanner liegen die Anschaffungskosten um etwa 15.000,-- DM höher. Für die laufenden Kosten ist pro Dünnschichtplatte anzusetzen:

Lösungsmittel	: 0,80 DM
Dünnschichtplatte	: 2,00 DM
Reagenzien	: 0,20 DM
Summe	<u>3,00 DM</u>

Da pro Platte 6 Analysen jeweils als Doppelbestimmungen durchgeführt werden, betragen die Kosten pro komplette Lungenreifeuntersuchung etwa 1,--DM.

Arbeitsschritte	min/Platte	min/Analyse
Vorbereitung der Platte	5	5
Auftragen der Standards	30	30
Extraktion des Fruchtwassers	25	3
Auftragen der Extrakte	60	8
Anfärbung der Platte	10	10
Auswertung	20	15
Computerberechnung	5	3
Gesamtarbeitszeit:	155 min/Platte	74 min/Analyse

Tab. 3: Zeitaufwand für die einzelnen Arbeitsschritte

Der Zeitaufwand pro Platte und für eilige Einzelanalysen in Minuten ist in Tab. 3 berechnet worden. Die Gesamtarbeitszeit liegt bei 2 1/2 Stunden. Hinzu kommt eine Laufzeit von 50 Minuten, so daß der Gesamtzeitaufwand bis zum Vorliegen des Ergebnisses bei der Auswertung einer Platte etwa 3 1/2 Stunden beträgt. Da, wie bereits erwähnt, pro Platte 3 Doppelbestimmungen durchgeführt werden, liegen nach dieser Zeit die Ergebnisse von 3 Patientenseren vor. Bei gleichzeitiger Durchführung einer größeren Anzahl von Untersuchungen, d.h. gleichzeitiger Bearbeitung mehrerer Dünnschichtplatten, wird der Arbeitsaufwand pro Platte wesentlich verringert. Für eine eingearbeitete Laborkraft ist es deshalb möglich, 4 Platten pro Tag zu bearbeiten, d.h. 12 Patientenseren zu untersuchen, wobei es sich jeweils um Doppelbestimmungen handelt. Bei sehr eiligen Fällen kann eine Einzeluntersuchung durchgeführt werden, deren Ergebnis nach gut zwei Stunden vorliegt (74 min Arbeitszeit + 50 min Laufzeit).

33 Untersuchungsverfahren und Ergebnisse

Die hier beschriebene densitometrische Untersuchungsmethode hat sich bei der Klärung verschiedener mit dem Lezithinge-

halt des Fruchtwassers zusammenhängender Probleme bewährt. So wurde der Zusammenhang zwischen dem Lezithingehalt des Fruchtwassers und dem Gestationsalter bestätigt (K_8). Auf der Basis dieser Methode konnte ein umfassendes Prüfungssystem zur pränatalen Routinediagnostik der kindlichen Lungenreife entwickelt werden, in dessen Rahmen innerhalb von 3 Jahren etwa 650 Fruchtwasserproben von etwa 600 Patientinnen routinemäßig überprüft wurden. Darüberhinaus wurden im Zusammenhang mit wissenschaftlichen Fragestellungen über 600 weitere Fruchtwasserproben untersucht. Da das Verfahren auch die Lezithinbestimmung im Trachealsekret ermöglicht, konnte die Abhängigkeit des Lezithingehaltes des Fruchtwassers von dem des Trachealsekrets bestätigt werden (D_6). Auch Bestimmungen des Lezithingehaltes von Magensaft und Vaginalschleim sind möglich. Geringfügige Änderungen der Methode ermöglichen die Bestimmung des Sphingomyelingealtes des Fruchtwassers. Damit konnte eine quantitative Bestimmung des Lezithin-Sphingomyelin-Quotienten (L/S- ratio) vorgenommen werden (K_{10}). Diese Methode wird von uns bei Fällen unklaren Fruchtwassergehaltes (Hydramnion, vorzeitiger Blasensprung) angewendet.

Die Methode ist auch bei Vorliegen sehr geringer Fruchtwassermengen als Halbmikromethode durchführbar, denn bereits 0,25 ml Fruchtwasser genügen zur Bestimmung. So können auch mit z.B. bei transzervikaler Mikropunktion gewonnenen geringen Fruchtwassermengen Analysen durchgeführt werden. Durch Variation der Methode konnte selbst in 0,05 bis 0,2 ml Trachealsekret Lezithinbestimmungen durchgeführt werden (D_6).

Um eine kontinuierliche und lückenlose Erfassung der in Frage kommenden RDS-Fälle zu ermöglichen, wurde eine Reihe organisatorischer Maßnahmen ergriffen. Hierzu gehört die Entwicklung eines Patientenblattes (Abb. 11), in das alle Daten der Patientin, von der das zu untersuchende Fruchtwasser stammt, eingetragen werden. Neben reinen Personaldaten werden hier auch Untersuchungsergebnisse anderer Untersuchungen der Mutter und des Feten und eventuell besondere Ereignisse

nisse und Komplikationen eingetragen, um so später einen vollständigen Überblick über alle Daten zu haben, besonders natürlich die, welche mit der Lungenreife in Beziehung stehen.

Wichtig ist auch die genaue Beschreibung des Fruchtwassers, für die in dem Patientenblatt tabellarisch aufgeführte Vorschläge gemacht werden. Hier werden auch die Ergebnisse des Schaumtests nach CLEMENTS (C_5) festgehalten. Dieser wird als Screening-Verfahren verwendet, um die Zahl der nach der hier beschriebenen Methode zu untersuchenden Fruchtwasserproben möglichst gering zu halten. Einzelheiten des Routineverfahrens, das aus dem Schaumtest nach CLEMENTS und den hier beschriebenen Verfahren besteht, sind in einer Folgearbeit beschrieben (K_9). Das Patientenblatt enthält auch ausführliche Angaben über Art der Fruchtwasserentnahme, Art der Geburt und eine Reihe von Kindsdaten, um so später die Möglichkeit zu haben, Zusammenhänge zwischen verschiedenen Parametern zu untersuchen.

Das mit einer Nummer versehene Fruchtwasser, die auch im Patientenblatt vermerkt ist, wird zusammen mit einem Laufzettel (Abb. 12) zur Analyse gegeben. Der Untersucher kann die gemessenen Werte eintragen und nach dem beigefügten Beurteilungsschema die Diagnose stellen.

Um den Zusammenhang zwischen Lezithinkonzentration des Fruchtwassers und der Lungenreife zu überprüfen, wurden 252 Fruchtwasser aus 200 normalen Schwangerschaften verschiedenen Gestationsalters untersucht. Für die Aufstellung der Kurve wurden nur Fruchtwasser von Schwangerschaften verwandt, die keine Risikofaktoren oder sonstige Abweichungen von der Norm aufwiesen. Im einzelnen wurden ausgeschieden: Mehrlingsgeburten, Fälle mit Mißbildungen, intrauterinem Fruchttod, Hydramnion, sowie Dysmature und Fälle diabetischer Mütter. Abb. 15 zeigt die Medianwerte und die 5%-Perzentile in Abhängigkeit von der Gestationswoche. Bemerkenswert ist der Anstieg des Lezithingehaltes des Fruchtwassers im Bereich

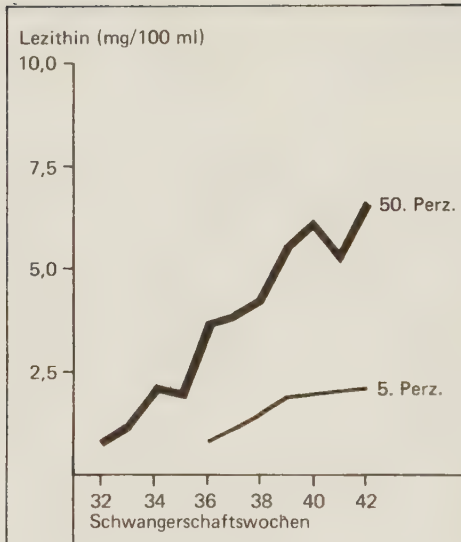


Abb. 15: Abhängigkeit des Lezithingehaltes des Fruchtwassers von der Gestationswoche bei ungestörter Schwangerschaft

der 35. Woche. Ab 39. Woche liegen die Medianwerte ziemlich konstant bei etwa 6 mg Lec/100 ml FW und die 5%-Perzentile über 2 mg Lec/100 ml FW. Im oberen klinisch uninteressanten Bereich zeigen sich besonders bei den höheren Schwangerschaftswochen starke Schwankungen, sichtbar am steilen Anstieg der 95%-Perzentile (nicht abgebildet). Es wurden vereinzelt Lezithinwerte von 40 mg/100 ml FW und mehr gemessen. Diese Tatsache ist verantwortlich dafür, daß bei Darstellung der arithmetischen Mittelwerte in diesem Bereich den wahren Sachverhalt verschleiерnde, überhöhte mittlere Gehalte von ca 9 mg Lec/100 ml FW (K_8) erhalten werden. Die Mediankurve zeigt dagegen ein den wahren Verhältnissen näher kommendes Bild, auch wenn der Anstieg nicht mehr so eindrucksvoll erscheint. Der bei ungestörter Schwangerschaft im Bereich der 34. bis 36. Woche beginnende deutliche Anstieg des Lezithingehaltes des Fruchtwassers erfolgt bei den meisten Schwangerschaften somit nicht sprunghaft, sondern kontinuierlich.

Lezithingehalt	Beurteilung
4,0 mg/100 ml Lec	gut
2,5 - 4,0	noch normal
1,5 - 2,4	kritisch
1,5	mangelnde Lungenreife wahrscheinlich

Tab. 4: Beurteilungsschema für die fetale Lungenreife

Aus dem Vergleich der klinischen Daten und der gemessenen Lezithinwerte konnten die in Tab. 4 dargestellten Gruppen gebildet werden. Wenn man Fälle mit unsicherer Fruchtwassermenge ausscheidet, ist bei einem Lezithingehalt von 2,5 mg/100 ml FW oder mehr sicher nicht mit einem RDS zu rechnen. Lezithinwerte unter 1,5 mg/100 ml FW zeigen eine hohe Gefährdung hinsichtlich mangelnder Lungenreife an. Die Eintrittswahrscheinlichkeit für ein RDS liegt in diesen Fällen bei über 20%, Beurteilungskriterien für Fälle mit unklarer Fruchtwassermenge, bei denen der L/S-Quotient bestimmt werden soll, sind aus Abb. 12 zu entnehmen. Danach ist bei Werten über 1,9 die Lungenreife sicher gegeben, unter 1,5 mit Wahrscheinlichkeit nicht ausreichend.

34 Beurteilung der Methode

Wie die Untersuchungen zeigen, handelt es sich bei der beschriebenen Methode um ein hochspezifisches Verfahren. Besonders bemerkenswert ist die gute Wiederfindungsrate. Das ist ein entscheidender Punkt, da in einem so komplexen System, wie dem Fruchtwasser, die Spezifität eines Nachweisverfahrens einen entscheidenden Faktor darstellt; eine besonders im tiefen Konzentrationsbereich hohe Standardabweichung kann dann durchaus in Kauf genommen werden. Die Grenzkonzentration reicht aus, um auch im RDS-verdächtigen Bereich noch genaue Untersuchungen durchführen zu können. Durch Eindampfung des

Fruchtwassers bzw. durch die Bestimmung des L/S-Quotienten ist eine weitere Variation der Methode möglich. Sie kann so auch in Fällen angewandt werden, wo in Folge starker Fruchtwasserschwankungen (Blasensprung, Hydramnion) eine eindeutige Aussage der reinen Lezithinbestimmung in Frage gestellt ist. Der finanzielle Aufwand für die Geräteausstattung ist erheblich. Bedenkt man jedoch, daß in einem Teil der Laboratorien die in Kap. 32 genannten Geräte bereits vorhanden sind, ergibt sich schon ein wesentlich günstigeres Bild. So muß nicht unbedingt ein Tischrechner im Hause zur Verfügung stehen. Da das Programm auf Magnetkarten speicherbar ist, kann es auch außerhalb des Labors ausgewertet werden. Es ist sogar eine Auswertung über telefonische Datenvermittlung ohne weiteres möglich. Den hohen Investitionskosten stehen sehr geringe laufende Kosten von 1,-- DM pro Untersuchung gegenüber, so daß auch ein großes Untersuchungsmaterial bearbeitet werden kann, ohne daß der laufende Laboretat übermäßig belastet werden muß. Der Zeitaufwand zur Durchführung der Methode ist vertretbar und erlaubt die laufende Kontrolle. In einer mittleren bis großen Klinik ist eine Laborkraft mit der Durchführung 2 bis 3 Tage/Woche beschäftigt. Das Ergebnis liegt am selben Tag vor, was unbedingt erforderlich ist, da in den meisten Fällen bald über die Einleitung zur Geburt, Tokolyse oder andere therapeutische Maßnahmen entschieden werden muß.

Die Lungenreifekontrolle wird an unserem Hause als Routineverfahren (K_9) seit Oktober 1972 durchgeführt. Die Abb. 16 und 17 zeigen, daß von den im Zeitraum von Oktober 1972 bis einschließlich Februar 1975 erfolgten 4286 Geburten 659 auf ausreichende Lungenreife untersucht wurden, das sind etwa 15%. Davon konnten nur etwa 26% wegen eines eindeutig positiven Schaumtestes als ungefährdet ausgeschieden werden, die restlichen mußten aus verschiedenen Gründen durch Lezithinbestimmung untersucht werden. Die Ursachen waren:

- a) Verunreinigung der Fruchtwassers mit Blutspuren
und/oder Mekonium
- b) negativer Schaumtest

c) zu geringe Fruchtwassermenge

d) quantitative Kontrolle des Therapieerfolges.

Von 2365 geburtshilflich betreuten Patientinnen vom Oktober 1972 bis Februar 1974 waren:				
Risikopatientinnen 382 (16,2%)				
Schaumtest positiv	Schaumtest negativ	zu geringe Frucht- wassermenge	Mekonium	Blutspuren* teilweise mit Mekonium
105=27,5%	91=23,8%	21=5,5%	83=21,7%	82=21,5%
Lunge ist reif	Quantitative Lezithinbestimmung notwendig zur Prüfung der Lungenreife 277=72,5 %			
	* Hb<0,8 g/100 ml Fruchtwasser			

Abb. 16: Untersuchte Risikopatientinnen von Oktober 1972 bis Februar 1974

Da im letzten Jahr die Anzahl der mit Corticoiden oder Bisolvon Metabolit VIT therapierten Patientinnen stark zugenommen hat und hier eine Kontrolle des Therapieerfolges durch quantitative Bestimmung des Lezithingehaltes im Fruchtwasser erforderlich ist, muß, wie Abb. 17 zeigt, eine Extragruppe gebildet werden.

Von 1921 geburtshilflich betreuten Patientinnen vom März 1974 bis Februar 1975 waren:					
Risikopatientinnen 277 (14,4%)					
nicht therapiert 207=74,7%					
Schaumtest positiv	Schaumtest negativ	zu geringe Frucht- wassermenge	Mekonium	Blutspuren* teilweise mit Mekonium	therapiert und mehrmals kontrolliert
50= 24,2%	79= 38,2%	20= 9,7%	27= 13,0 %	31= 15,0%	70= 25,3%
Lunge ist reif	Quantitative Lezithinbestimmung notwendig zur Prüfung der Lungenreife 227= 81,9%				
	*Hb<0,8 g/100 ml Fruchtwasser				

Abb. 17: Untersuchte Risikopatientinnen von März 1974 bis Februar 1975

Im Zeitraum von März 1974 bis einschließlich Februar 1975 wurden von den 277 untersuchten Risikopatientinnen bereits 25,3% therapiert.

Seit dem Herbst 1972 läuft das beschriebene Programm routinemäßig; 1973 sank an der hiesigen Klinik die frühe postnatale Sterblichkeit gegenüber 1972 und den Vorjahren von etwa 2% auf unter 1%. Es erscheint sicher, daß an diesem Erfolg neben anderen Verbesserungen der fetalen Überwachung die Lungenreifekontrolle maßgeblich beteiligt ist.

4 Zusammenfassung

Es wird eine Methode beschrieben, die die direkte spezifische und quantitative Bestimmung von Lecithin zur Überprüfung der fetalen Lungenreife ermöglicht. Daneben wird eine Literaturübersicht zum Stand der Kenntnisse auf dem Gebiete der Lungenreifediagnostik unter Angabe der verschiedenen methodischen Möglichkeiten gegeben. Die Lecithine werden densitometrisch gegen Standards gemessen, wobei selbst Fruchtwassermengen von 0,25 ml noch eine Bestimmung ermöglichen.

Die densitometrischen Messungen werden wahlweise mit einer Gerätkombination, bestehend aus dem Spektralfotometer PMQ II der Firma ZEISS kombiniert mit dem CAMAG/Z-Scanner oder einem Chromatogramm-Spektralfotometer der Firma ZEISS, durchgeführt. Die Auswertung erfolgt mit Hilfe eines Tischrechners 9810 A der Firma HEWLETT-PACKARD, der mit einem Plotter zur graphischen Darstellung der Eichkurven kombiniert werden kann. Die Gesamtkosten der Ausrüstung liegen für die einfachere Ausstattung bei etwa 50.000,- DM. Den hohen Investitionskosten stehen geringe laufende Kosten von etwa 1,- DM pro Untersuchung gegenüber.

Die Meßgenauigkeit liegt im mittleren Meßbereich bei 9,7%, im untersten, der Nachweisgrenze von 0,4 mg Lec/100 ml FW pro Fleck nahekommenden Grenzkonzentration, bei 24% und im oberen Meßbereich bei 12%. Die Wiederfindungsrate wurde mit

96,6% bestimmt.

Das Ergebnis von auf einer Dünnschichtplatte auszuwertenden 3 Fruchtwassern liegt nach 3 1/2 Stunden vor. Bei sehr eiligen Fällen kann eine Einzeluntersuchung durchgeführt werden, deren Ergebnis nach gut 2 Stunden erhalten wird, womit eine Laborkraft in einer mittleren bis großen Klinik etwa 2 bis 3 Tage in der Woche mit der Durchführung der Lungenreifebestimmung beschäftigt ist.

Der mittlere Lezithingehalt des Fruchtwassers (Medianwert) im Bereich der 39. bis 41. Woche liegt bei 6 mg/100 ml FW. Bei Meßwerten ab 2,5 mg Lec/100 ml FW bzw. einem L/S-Quotienten über 1,9 ist eine reife Lunge zu erwarten. Werte unter 1,5 Lec/100 ml FW bzw. L/S-Quotienten unter 1,5 signalisieren die Gefahr mangelnder Lungenreife.

Mit der Methode wurden bereits über 1200 Bestimmungen durchgeführt, davon allein etwa 600 im Rahmen eines seit Oktober 1972 laufenden Routineprogramms. Seit 1974 wird die Methode im steigenden Maße zur Kontrolle des Therapieerfolges bei der Gabe von Corticoiden bzw. Bisolvon-Derivaten zur Verhinderung des RDS-Syndroms angewendet. An dem Absinken der perinatalen Sterblichkeit an der hiesigen Klinik seit 1973 ist sicherlich, neben anderen Verbesserungen der fetalen Überwachung, die Lungenreifekontrolle maßgeblich beteiligt.

5 Literaturverzeichnis

- A₁) ALKINDOR, L.G., G.BEREZIAT, J.P.GAUTRAY: Le rapport de concentration acide palmitique sur acide stéarique, indicateur de la maturité pulmonaire foetale.
Clin. Chim. Acta 50 (1974) 31
- B₁) BAYER, P.M., M.M.MÜLLER, E.MACHACEK: Zur Biochemie der HAND-SCHÜLLER-CHRISTIAN'schen Erkrankung.
Z. klin. Chem. u. klin. Biochem. 10 (1972) 127
- B₂) BHAGWANANI, S.G., D.FAHMY, A.C.TURNBULL: Prediction of neonatal respiratory distress by estimation of amniotic-fluid lecithin.
Lancet I (1972) 159
- B₃) BHAGWANANI, S.G., D.FAHMY, A.C.TURNBULL: Quick determination of amniotic-fluid lecithin concentration for prediction of neonatal respiratory distress.
Lancet II (1972) 66
- B₄) BHAGWANANI, S.G., D.FAHMY, A.C.TURNBULL: Bubble stability test compared with lecithin assay in prediction of respiratory distress syndrome.
Brit. med. J. 1 (1973) 697
- B₅) BIEZENSKI, J.J.: Amniotic fluid phospholipids in early gestation.
Obstet. and Gynec. 41 (1973) 825
- B₆) BIGGS, J.S.G., T.J.GAFFNEY, H.M.McGEARY: Evidence that fetal lung fluid and phospholipids pass into amniotic fluid in late human pregnancy.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 80 (1973) 125
- B₇) BIGGS, J.S.G., T.J.GAFFNEY, H.M.McGEARY, M.J.McMAHON: The phospholipid test of fetal respiratory maturity: its value in clinical obstetrics.
Aust. N.Z.J. Obstet. Gynaec. 13 (1973) 92
- B₈) BOEHM, F.H., SOMKEART SRISUPUNDIT, TOYOHISA ISHII: Lecithin-sphingomyelin ratio and a rapid test for surfactant in amniotic fluid.
Obstet. and Gynec. 41 (1973) 829
- B₉) BRUMLEY, G.W.: Lung development and lecithin metabolism.
Arch. Intern. Med. 127 (1971) 413
- C₁) CASPI, E., P.SCHREYER, I.TAMIR: The amniotic fluid foam test, L/S ratio, and total phospholipids in the evaluation of fetal lung maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 122 (1975) 323

- C₂) CASPI, E., P. SCHREYER, Z. WEINRAUB, I. BUKOVSKY, I. TAMIR: Changes in amniotic fluid lecithin-sphingomyelin ratio following maternal dexamethasone administration. Amer. J. Obstet. Gynec. 122 (1975) 327
- C₃) CEDARD, L., J. CENTENE, C. AMIEL-TISON, R. HENRION: Assessment of fetal lung maturity by amniocentesis with the lecithin/sphingomyelin ration. Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 275
- C₄) CHARLES, D., H. E. JACOBY: Fetus and newborn. Amer. J. Obstet. Gynec. 95 (1966) 266
- C₅) CLEMENTS, J. A., A. C. G. PLATZKER, D. F. TIERNEY et al.: Assessment of risk of the respiratory-distress syndrome by a rapid test for surfactant in amniotic fluid. New. Engl. J. Med. 286 (1972) 1077
- C₆) COCH, E. H., G. KESSLER, J. S. MEYER: Rapid thin-layer chromatographic method for assessing the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid. Clin. Chem. 20 (1974) 1368
- D₁) DE CASTRO, A. F., M. USATEGUI-GOMEZ, W. N. SPELLACY: Amniotic fluid amylase. Amer. J. Obstet. Gynec. 116 (1973) 931
- D₂) DE LEMOS, R: Acceleration of appearance of pulmonary surfactant in the fetal lamb by administration of glucocorticoids. Amer. Rev. Resp. Dis. 102 (1970) 459
- D₃) DEWHURST, C. J., A. M. DUNHAM, D. R. HARVEY, C. E. PARKINSON: Prediction of respiratory-distress syndrome by estimation of surfactant in the amniotic fluid. Lancet 1 (1973) 1475
- D₄) DONALD, I. R., R. K. FREEMAN, U. GOEBELSMANN, W. H. CHAN, R. M. NAKAMURA: Clinical experience with the amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio. Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 547
- D₅) DORAN, T. A., R. J. BENZIE, J. L. HARKINS, V. M. JONES OWEN, C. J. PORTER, D. W. THOMPSON, S. I. LIEDGREN: Amniotic fluid tests for fetal maturity. Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 829
- D₆) DUDENHAUSEN, J. W., G. KYNAST, E. SALING: Vergleich der Konzentrationen von Lecithin im Fruchtwasser und im Trachealsekret. In: DUDENHAUSEN, J. W., E. SALING: Perinatale Medizin Band V. 6. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1973. Thieme, Stuttgart 1974
- D₇) DUHRING, J. L., S. A. THOMPSON: Amniotic fluid phospholipid analysis in normal and complicated pregnancies. Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 218

- E₁) ECKERT, H., E. HALBERSTADT, R. GERNER, V. v. LOEWENICH: Beeinflussung der fetalen Lungenreife durch Kortikoide. In: DUDENHAUSEN, J. W., E. SALING: Perinatale Medizin Band VI. 7. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1974. Thieme, Stuttgart 1975
- F₁) FAIRBROTHER, P. F., I. L. DU TOIT, R. L. CHEIFITZ: The amniotic fluid foam test and fat cell count in malnourished and well-nourished fetuses. Brit. J. Obstet. Gynaec. 82 (1975) 182
- F₂) FALCONER, G. F., J. S. HODGE, R. L. GADD: Influence of amniotic fluid volume on lecithin estimation in prediction of respiratory distress. Brit. Med. J. 2 (1973) 689
- F₃) FINE, J.: Cause of respiratory-distress syndrome. Lancet II (1973) 797
- F₄) FREEMAN, R. K., B. G. BATEMAN, U. GOEBELSMANN, J. J. ARCE, J. JAMES: Clinical experience with the amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio. Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 239
- G₁) GERBIE, M. V., A. B. GERBIE, J. BOEHM: Diagnosis of fetal maturity by amniotic fluid phospholipids. Amer. J. Obstet. Gynec. 114 (1972) 1078
- G₂) GLASS, L., K. K. RAJEGOWDA, H. E. EVANS: Absence of respiratory distress syndrome in premature infants of heroin-addicted mothers. Lancet II (1971) 685
- G₃) GLUCK, L., M. SRIBNEY, M. V. KULOVICH: The biochemical development of surface activity in mammalian lung. II: The biosynthesis of phospholipids in the lung of the developing rabbit fetus and newborn. Pediat. Res. 1 (1967) 247
- G₄) GLUCK, L., M. V. KULOVICH, R. C. BORER, P. H. BRENNER, G. G. ANDERSON, W. N. SPELLACY: Diagnosis of the respiratory distress syndrome by amniocentesis. Amer. J. Obstet. Gynec. 109 (1971) 440
- G₅) GLUCK, L.: Surfactant: 1972. Pediat. Clin. N. Amer. 19 (1972) 325
- G₆) GLUCK, L., M. V. KULOVICH, A. I. EIDELMAN, L. CORDERO, A. F. KHAZIN: Biochemical development of surface activity in mammalian lung. IV: Pulmonary lecithin synthesis in the human fetus and newborn and etiology of the respiratory distress syndrome. Pediat. Res. 6 (1972) 81

- G₇) GLUCK, L., M.V.KULOVICH: Fetal lung development.
Pediat. Clin. N. Amer. 20 (1973) 367
- G₈) GEBHARDT, D.O.E., A.DUBBELDAM: Relation between lecithin/
sphingomyelin ratios of amniotic fluid and method of
determination.
Lancet 1 (1973) 726
- G₉) GOLDSTEIN, A.S., K.FUKUNAGA, N.MALACHOWSKI, J.JOHNSON:
A comparison of the lecithin/sphingomyelin ratio and
shake test for estimating fetal pulmonary maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 118 (1974) 1132
- G₁₀) GORDON, H., I.BROSENS: Cytology of amniotic fluid: an
new test for fetal maturity.
Obstet. and Gynec. 30 (1967) 652
- G₁₁) GUSDON, J.P., B.M.WAITE: A colorimetric method for amnio-
tic fluid phospholipids and their relationship to the
respiratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 112 (1972) 62
- H₁) HASTWELL, G.B.: Amniotic fluid: visual assessment of fe-
tal maturity.
Lancet 1 (1975) 349
- H₂) HAVERKATE, F., L.L.M.VAN DEENEN: Isolation and chemical
characterization of phosphatidyl glycerol from spinach
leaves.
Biochim. Biophys. Acta 106 (1965) 78
- H₃) HOBBS, J.C., W.BROCK, L.SPEROFF, G.G.ANDERSON, F. u.
B.CALDWELL: L/S ratio in predicting pulmonary maturity
in utero.
Obstet. and Gynec. 39 (1972) 660
- J₁) JACKLON, R.W., G.D.ANDERSON, B.HELD: Amniotic fluid phos-
pholipids and fetal lung maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 1095
- K₁) KALOUD, H., I.MUTZ, M.HAIDVOGL, E.WEIKMANN: Hydrierte
Mutterkornalkaloide beim Respiratory-distress-Syndrom.
Klin. Pediatric 184 (1972) 107
- K₂) KELLNER, R., J.REICH: Zur Behandlung des Atemnotsyndroms
Frühgeborener mit Xantinolnicotinat.
Z. Kinderheilk. 113 (1972) 19
- K₃) KENISTON, R.C., M.L.PERNOLL, N.R.M.BUIST, M.LYON, J.R.
SWANSON: A prospective evaluation of the lecithin/sphin-
gomyelin ratio and the rapid surfactant test in relation
to fetal pulmonary maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 324
- K₄) KEUTH, U.: Membransyndrom (Atemnotsyndrom) der Frühgebo-
renen.
Fortschr. Med. 91 (1973) 693

- K₅) KOTAS, R.V., M.E. AVERY: Accelerated appearance of pulmonary surfactant in the fetal rabbit.
J. Appl. Physiol. 30 (1971) 358
- K₆) KYNAST, G.: Direkte quantitative Bestimmung von Biscarbamaten in Pflanzenschutzmittel-Emulsionskonzentraten auf Dünnschicht-Chromatogrammen durch Remissionsmessungen.
Z. Analyt. Chem. 250 (1970) 105
- K₇) KYNAST, G.: Spezifische und quantitative Bestimmung von Verunreinigungen in Pflanzenschutzmitteln auf Dünnschichtplatten durch Remissionsmessungen.
Z. Analyt. Chem. 251 (1970) 161
- K₈) KYNAST, G., E. SALING: Rapid specific determination of amniotic fluid lecithins as a test of fetal lung maturity.
J. Perinat. Med. 1 (1973) 213
- K₉) KYNAST, G., E. SALING: Routine diagnosis of fetal lung maturity.
J. Perinat. Med. 2 (1974) 208
- K₁₀) KYNAST, G., J.W. DUDENHAUSEN, G. MROZ, E. SALING: Densitometrische Bestimmung des Lecithin-Sphingomyelin-Quotienten in Fruchtwasser.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E. SALING: Perinatale Medizin, Band VI. 7. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1974. Thieme, Stuttgart 1975.
- K₁₁) KYNAST, G., E. SALING: Simple, rapid test for specific determination of fetal lung maturity.
J. Perinat. Med. 3 (1975)
- L₁) LEMONS, J.A., R.B. JAFFE: Amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio in the diagnosis of hyaline membrane disease.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 233
- L₂) LIGGINS, G.C., R.N. HOWIE: A controlled trial of antepartum glucocorticoid treatment for prevention of the respiratory distress syndrome in premature infants.
Pediatrics 50 (1972) 515
- L₃) LIU, D.T.Y.: Phosphodiesterase inhibition and respiratory-distress syndrome.
Lancet II (1973) 378
- L₄) LORENZ, U., H. RÜTTGERS, M. FROMME, U. HALLER, F. KUBLI: Changes of amniotic fluid phospholipids during pregnancy.
3. Europäischer Kongreß für Perinatale Medizin, Lausanne; April 1972. Perinatal Medicine. Huber, Bern; Stuttgart; Wien 1973

- L₅) LORENZ, U.: Lecithinfettsäuremuster im Fruchtwasser: Veränderungen während der Schwangerschaft.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E.SALING: Perinatale Medizin Band V. 6. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1973. Thieme, Stuttgart 1974.
- L₆) LORENZ, U., F.KUBLI: Beeinflussung der Fruchtwasserphospholipidfraktion durch Bromhexine-Metabolit VIII.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E.SALING: Perinatale Medizin Band V. 6. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1973. Thieme, Stuttgart 1974.
- L₇) LORENZ, U., H.RÜTTGERS, G.FUX, F.KUBLI: Fetal pulmonary surfactant induction by bromhexine metabolite VIII.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 1126
- L₈) LORENZ, U., H.RÜTTGERS, W.WAAS, F.KUBLI: Lecithin-Fettsäuremuster im Fruchtwasser vor und nach Surfactant-Induktion mit Bromhexine metabolit VIII.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E.SALING: Perinatale Medizin Band VI, 7. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1974. Thieme, Stuttgart 1975
- M₁) MANDELBAUM, B., A.LA CROIX, A.ROBINSON: Bilirubin determination by spectrophotometric analysis of amniotic fluid.
Obstet. and Gynec. 30 (1967) 653
- M₂) MELCHERT, F.: Das Fruchtwasser der normalen Schwangerschaft.
Gynäkologe 6 (1973) 156
- M₃) MERKUS, J.M.W.M., H.C.L.V.KOCK, F.W.H.M.MERKUS, A.G.J. VERHOEVEN, A.J.M.M.BEYSENS: Evaluation of the amniotic fluid test and its relationship to the respiratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 859
- M₄) MEROLA, J.C.L., L.M.JOHNSON, R.J.BOLOGNESE, S.L.CORSON: Determination of fetal pulmonary maturity by amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio and rapid shake test.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 243
- M₅) MILES, P.A., J.W.PEARSON: Amniotic fluid osmolality in assessing fetal maturity.
Obstet. and Gynec. 34 (1969) 701
- M₆) MORGAN, T.E.: Biosynthesis of pulmonary surface-active lipid.
Arch. Intern. Med. 127 (1971) 401
- M₇) MROZ, G.: Dünnschichtchromatografische Sphingomyelin-Bestimmung im Fruchtwasser.
Dissertation, Freie Universität Berlin, In Vorbereitung

- M₈) MÜLLER-TYL, E., J. LEMPERT, K. STEINBEREITHNER, H. BENZER: Surface properties of the amniotic fluid in normal pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 122 (1975) 295
- M₉) MUKHERJEE, T. K., B. K. RAJEGOWDA, L. L. GLASS, J. AUERBACH, H. E. EVANS: Amniotic fluid shake test versus lecithin/sphingomyelin ratio in the antenatal prediction of respiratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 648
- M₁₀) MYERS, J. L., M. J. P. HARRELL, F. L. HILL: Fetal maturity: Biochemical analyses of amniotic fluid.
Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 961
- N₁) NAKAMURA, J., J. F. ROUX, E. G. BROWN, A. Y. SWEET: Total lipids and the lecithin-sphingomyelin ratio of amniotic fluid: an antenatal test of lung immaturity?
Amer. J. Obstet. Gynec. 113 (1972) 363
- N₂) NAKAMURA, J., J. F. ROUX: Determination of amniotic fluid phospholipids for the diagnosis of fetal maturation.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 104
- N₃) NELSON, G. H.: Relationship between amniotic fluid lecithin concentration and respiratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 112 (1972) 827
- N₄) NELSON, G. H., S. W. LAWSON: Determination of amniotic fluid total phospholipid phosphorus as a test for fetal lung maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 933
- N₅) NELSON, G. H., S. W. LAWSON, WAN LYE HO, D. S. FREEDMAN: Further observations on the relationship between the amniotic fluid lecithin concentration and fetal pulmonary maturity.
Amer. J. Obstet. Gynec. 117 (1973) 577
- N₆) NELSON, G. H.: Risk of respiratory distress syndrome as determined by amniotic fluid lecithin concentration.
Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 753
- O₁) O'LEARY, J. A., A. A. BEZJIAN: Amniotic fluid fetal maturity score.
Obstet. and Gynec. 38 (1971) 375
- O₂) OUTERBRIDGE, W., M. B. NOGRADY, P. H. BEAUDRY, L. STERN: Idiopathic respiratory distress syndrome.
Amer. J. Dis. Child. 123 (1972) 99
- P₁) PARKINSON, C. E., D. R. HARVEY: A comparison between the lecithin/sphingomyelin ratio and other methods of assessing the presence of fetal pulmonary surfactant in amniotic fluid.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlt. 80 (1973) 406

- P₂) PARKINSON, C.E., D. HARVEY, D. TALBERT: Surface properties of amniotic fluid bubbles.
Biol. Neonate 25 (1974) 289
- P₃) PENDER, C.B.: Aetiology of the respiratory-distress syndrome.
Lancet I (1973) 1516
- P₄) PITKIN, R.M., S.J. ZWIREK: Amniotic fluid creatinine.
Amer. J. Obstet. Gynec. 98 (1967) 1135
- Q₁) QUINLIVAN, W.L.G., W.F. REYNOLDS, T. MARRALLE, G. KABACY, D. KENT, H. SULLIVAN, R.C. FARRELL: An evaluation of multiple tests and the lecithin/sphingomyelin ratio for determining gestational age.
Amer. J. Obstet. Gynec. 116 (1973) 1147
- R₁) REDDING, R.A., W.H.J. DOUGLAS, M. STEIN: Thyroid hormone influence upon lung surfactant metabolism.
Science 175 (1972) 994
- R₂) RICHARDSON, G.J., J.J. POMERANCE, M.D. CUNNINGHAM, L. GLUCK: Acceleration of fetal lung maturation following prolonged rupture of the membranes.
Amer. J. Obstet. Gynec. 118 (1974) 1115
- R₃) ROSENFELD, C.R., H.F. EICHENWALD: The L/S ratio. Its use in the prediction of respiratory maturity in infants.
J. Amer. Med. Ass. 227 (1974) 619
- R₄) ROUX, J.F., J. NAKAMURA, E. BROWN: Assessment of fetal maturation by the foam test.
Amer. J. Obstet. Gynec. 117 (1973) 280
- R₅) ROUX, J.F., J. NAKAMURA, M. FROSOLONO: Fatty acid concentration of lecithin in the acetone fraction of amniotic fluid phospholipids.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 838
- R₆) RÜTTGERS, H., U. LORENZ, W. SCHÜZ, J. WINKLER, F. KUBLI: Vergleich von physikalischen und biochemischen Methoden zur antepartualen Reife-Diagnostik der fetalen Lunge aus dem Fruchtwasser.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E. SALING: Perinatale Medizin Band V. 6. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1973. Thieme, Stuttgart 1974
- S₁) SALING, E.: Prä maturitäts- und Dysmaturitäts-Präventionsprogramm (PDP-Programm).
Z. Geburtsh. u. Perinat. 176 (1972) 70
- S₂) SCHIRAR, A., J.P. VIELH, L.G. ALCINDOR, J.P. GAUTRAY: Amniotic fluid phospholipids and fatty acids in normal pregnancies.
Amer. J. Obstet. Gynec. 121 (1975) 653

- S₃) SCHULMAN, J.D., J.T. QUEENAN, E.M. SCARPELLI, E. CHURCH, P.A.M. AULD: Lecithin-sphingomyelin ratios in amniotic fluid.
Obstet. and Gynec. 40 (1972) 697
- S₄) SCHWENZEL, W., K. KÖRZ, H. LAHMANN: Gesamtphospholipid- und Lecithinbestimmungen im Fruchtwasser und ihre Bedeutung bei der Beurteilung der fetalen Lungenreife. In: Dudenhausen, J.W., E. SALING: Perinatale Medizin Band V. 6. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1973. Thieme, Stuttgart 1974
- S₅) SHEPHARD, B., W. BUHL, W. SPELLACY: Critical analysis of the amniotic fluid shake test.
Obstet. and Gynec. 43 (1974) 558
- S₆) SIEBERT, W., C. MEITINGER: Prophylaxe des Atemnotsyndroms mit Betamethason.
Geburtsh. u. Frauenheilk. 35 (1975) 130
- S₇) SINGH, E.J., F.P. ZUSPAN: Amniotic fluid lipids in normal human pregnancy.
Amer. J. Obstet. Gynec. 117 (1973) 919
- S₈) SINGH, E.J., F.P. ZUSPAN: A method for determination of lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid.
Arch. Gynäk. 218 (1975) 169
- S₉) SMITH, A.L., J. SCANLON: Amniotic fluid D(-)-B-hydroxybutyrate and the dysmature newborn infant.
Amer. J. Obstet. Gynec. 115 (1973) 569
- S₁₀) SPELLACY, W.N., W.C. BUHL: Amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio as an index of fetal maturity.
Obstet. and Gynec. 39 (1972) 852
- S₁₁) SPROULE, W.B., M.E. GREENE, C.R. WHITFIELD: Amniotic fluid bubble stability test as a screening procedure for predicting the risk of neonatal respiratory distress.
Amer. J. Obstet. Gynec. 119 (1974) 653
- T₁) THIBEAULT, D.W., C.J. HOEEL: The interrelationship of the foam stability test immaturity, and intrapartum complications in the respiratory distress syndrome.
Amer. J. Obstet. Gynec. 118 (1974) 56
- W₁) WAGSTAFF, T.I., G.A. WHYLEY, G. FREEDMAN: Factors influencing the measurement of the lecithin/sphingomyelin ratio in amniotic fluid.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cweth. 81 (1974) 264
- W₂) WHITFIELD, C.R., W.H. CHAN, W.B. SPROULE, A.D. STEWART: Amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio and fetal lung development.
Brit. med. J. 2 (1972) 85

- W₃) WHITFIELD, C.R., W.B.SPROULE, M.BRUDENELL: The amniotic fluid lecithin/sphingomyelin area ratio (LSAR) in pregnancies complicated by diabetes.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 80 (1973) 918
- W₄) WOLFF, F., M.MASSON, H.FRENKEL, C.KOEHL, P.LEISSNER, A.R.SCHICK: Das Verhältnis Lecithin/Sphingomyelin in der Bestimmung der fetalen Lungenreife und seine Abhängigkeit zum Schwangerschaftsalter.
In: DUDENHAUSEN, J.W., E.SALING: Perinatale Medizin, Band IV. 5. Deutscher Kongreß für Perinatale Medizin, Berlin, November 1972. Thieme, Stuttgart 1973
- W₅) WOYTON, J., J.SWARD, A.DZIOBA, A.GAJEWSKI, J.SZACKI, H.BARANOWSKI: Behaviour of total oestrogen, pregnanediol and creatinine levels in the amniotic fluid in the last weeks of pregnancy.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 80 (1973) 909
- Y₁) YARED, L.E., H.M.McGEARY, T.J.GAFFNEY: The value of the amniotic fluid lecithin/sphingomyelin ratio in the management of high risk pregnancy.
Aust. N.Z.J. Obstet. Gynaec. 13 (1973) 98
- Z₁) ZABKAR, J.H.: Evaluation of fetal maturity by amnioscopy.
J. Perinat. Med. (1975) Im Druck
- Z₂) ZACHMAN, R.D.: The enzymes of lecithin bio-synthesis in human newborn lungs.
Biol. Neonate 19 (1971) 211
- Z₃) ZACHMAN, R.D.: The enzymes of lecithin bio-synthesis in human newborn lungs.
Biol. Neonate 20 (1972) 448
- Z₄) ZÖLLNER, N., G.WOLFRAM, W.LONDONG, K.KIRSCH: Untersuchungen über die Plasmalipide des Neugeborenen, Säuglings und Kleinkindes
Klin. Wschr. 44 (1966) 380

Allen Mitarbeitern der Frauenklinik am Mariendorfer Weg und der Arbeitsgruppe für Perinatale Medizin der Freien Universität, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, gilt mein herzlicher Dank.

Besonders danke ich Herrn Prof. Dr. E. Saling für die Stellung des Themas, das ständige Interesse und die produktive Kritik.

Frau Brigitte Neumann danke ich für die viele Mühe, die sie sich mit dem Schreiben des Textes gegeben hat.

Lebenslauf

Am 3. Dezember 1937 wurde ich als zweites Kind des Polizeisekretärs Stefan Kynast und seiner Ehefrau Ruth, geb. Schlieske in Berlin geboren. Nach der Evakuierung aus Berlin besuchte ich von 1944 bis 1947 die Grundschulen in Weisenberg/Sachsen und Birnbach/Niederbayern. Darauf folgten drei weitere Grundschuljahre in Berlin und 1950 die Aufnahme in die Humboldt-Oberrealschule in Berlin-Tegel, wo ich im März 1957 die Reifeprüfung ablegte.

Im April des gleichen Jahres ließ ich mich an der Technischen Universität Berlin als Chemie-Student immatrikulieren, bestand im Juni 1960 die Diplom-Vorprüfung und legte im November 1963 die Diplom-Hauptprüfung ab. Anschließend begann ich mit der Anfertigung meiner Dissertation, die ich ab Mai 1964 an der Universität des Saarlandes fortsetzte. Dort wurde ich vom gleichen Zeitpunkt an als Hilfsassistent und ab Januar 1965 als wissenschaftlicher Assistent angestellt. Die Promotion erfolgte am 20. Februar 1967 mit Auszeichnung. Danach war ich ein halbes Jahr als wissenschaftlicher Assistent und nebenberuflich als Dozent an der Ingenieurakademie in Saarbrücken tätig.

Im November 1967 ging ich als Analytiker in die chemische Pflanzenschutzmittel-Forschung der Schering AG nach Berlin. Ab September 1969 nahm ich in dieser Firma die Stellung eines Abteilungsleiters im Werk Wolfenbüttel ein. Diese Stellung kündigte ich zum April 1971, um ein Medizin-Zweitstudium an der Freien Universität Berlin zu beginnen, wo ich mich zum Sommersemester 1971 unter Anrechnung zweier vorklinischer Semester immatrikulierte. Im Juni 1971 begann meine Mitarbeit in der Arbeitsgruppe für Perinatale Medizin der FU unter Prof. Salling. Am 24. August 1972 bestand ich die ärztliche Vorprüfung und im Februar 1976 das Staatsexamen.

Nebenberuflich war ich von Oktober 1971 bis Februar 1973 als Lehrbeauftragter für Analytische Chemie an der Technischen Fachhochschule Berlin tätig.

